

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет»

Направление «Медицина»

## **ВЫПУСКНАЯ КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА**

на тему: Применение пробиотиков и аутобиотиков для коррекции  
дислипидемии у пациентов с ишемической болезнью сердца

Выполнила:

Студентка 15.С08-м группы

Арыкина Оксана Эдуардовна

Научный руководитель:

к.м.н., доц.

Воловникова Виктория Александровна

Санкт-Петербург

2021

## Оглавление

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	3
ВВЕДЕНИЕ.....	4
Глава 1 . ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ .....	7
1.1. Роль кишечной микробиоты в регуляции липидного обмена.....	7
1.2. Значение кишечной микробиоты и ее метаболитов в развитии атеросклероза.....	12
1.3. Влияние статинов на кишечную микробиоту .....	18
1.4. Применение методов коррекции дисбиоза кишечника с использованием пробиотиков у пациентов с дислипидемией .....	22
1.5. Применение аутопробиотиков в современной клинической практике	27
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ .....	31
2.1. Общая характеристика обследованных пациентов .....	31
2.2. Методы исследования.....	35
2.3. Методы статистической обработки результатов .....	37
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ .....	38
3.1. Исследование пристеночной и просветной микробиоты в фекалиях у обследуемых пациентов .....	38
3.2. Оценка нарушений состояния микробиоты у пациентов с ИБС в зависимости от наличия дислипидемии и ее вариантов .....	42
3.3. Оценка влияния гиполипидемической терапии на состав кишечной микробиоты у пациентов с ИБС .....	46
3.4. Связь нарушений липидного обмена с изменением состава кишечной микробиоты.....	48
3.5. Оценка эффективности пробиотической и аутопробиотической терапии для коррекции дислипидемии у пациентов с ИБС .....	51
ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ.....	60
ЗАКЛЮЧЕНИЕ .....	66
ВЫВОДЫ.....	68
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	69
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	70
Приложение 1 .....	79

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

FMO - флавинмонооксигеназа

FXR – фарнезоидный рецептор X

PWV - скорость пульсовой волны

TGR5 - Takeda-рецептор, ассоциированный с G-белком 5

TMA – триметиламин

TMAO - N-оксид триметиламин

ИБС – ишемическая болезнь сердца

ИМТ – индекс массы тела

ЖКТ – желудочно-кишечный тракт

КЦЖК – короткоцепочечные жирные кислоты

ЛПВП - липопротеины высокой плотности

ЛПНП - липопротеины низкой плотности

ОХ – общий холестерин

ПЭК – эндотелиальные клетки-предшественники

СРК - синдром раздраженного кишечника

ТГ- триглицериды

## ВВЕДЕНИЕ

Процесс урбанизации и изменения образа жизни привели к значительному росту хронических заболеваний, в частности сердечно-сосудистых системы. Они являются основной причиной смертности в мире и представляют собой значимую медико-социальную проблему, требующую поиска новых стратегий их профилактики. Среди факторов риска развития сердечно-сосудистых заболеваний важное значение приобретают гиперхолестеринемия, гипертриглицеридемия, повышение концентрации липопротеинов низкой плотности (ЛПНП) и снижение уровня липопротеинов высокой плотности (ЛПВП), что подчеркивает необходимость и важность поиска новых терапевтических методов коррекции данных состояний. В последнее время, в литературе значительное место отводится обсуждению роли микробиоты кишечника в развитии нарушений липидного обмена макроорганизма. [1]

Микробиота кишечника регулирует многие метаболические процессы хозяина, включая энергетический гомеостаз, обмен глюкозы и липидный обмен посредством образования ряда продуктов, которые функционируют как метаболические субстраты и сигнальные молекулы в организме человека, что имеет серьезные последствия для его метаболизма и здоровья. Нарушение качественного и количественного состава микрофлоры, известное как дисбактериоз, может напрямую влиять на возникновение и связанные с этим осложнения многих различных заболеваний, в частности, изменения в составе и функции кишечной микрофлоры происходят при метаболическом синдроме и сердечно-сосудистых заболеваниях, которые представляют собой состояния, при которых может присутствовать дислипидемия.

Известно, что люди с гиперхолестеринемией имеют меньшее бактериальное разнообразие по сравнению с лицами с нормальным содержанием липидов в крови. Кроме того, профиль присутствующих

микроорганизмов отличается, что позволяет предположить, что кишечная микробиота, возможно, играет роль в развитии гиперхолестеринемии. [2]

На сегодняшний день, пробиотики активно используются в лечении и профилактики многих заболеваний. Как показали исследования, коррекция структуры кишечной микробиоты в результате приема пребиотиков и пробиотиков влияет на уровень холестерина, ЛПНП, триглицеридов, ЛПВП, а также некоторые преимущества наблюдались в отношении гликемического контроля, регуляции массы тела, контроля воспалительных реакций и иммунной системы. [3]

Не совсем ясным остается факт применения аутопробиотической терапии в современной клинической практике. Однако очевидно, что применение аутобактерий позволяет персонифицировать пробиотическую терапию, что способствует повышению ее эффективности и позволяет избежать возможных побочных эффектов, наблюдающихся при приеме штаммов микроорганизмов, входящих в состав коммерческих пробиотиков.

Таким образом, видно, что роль микробиоты и стратегии ее модификации, как путь терапевтического воздействия на липидный обмен изучены недостаточно.

В данной работе приводится исследование, проходившее на базе на базе кардиологического отделения Санкт-Петербургской клинической больницы Российской академии наук и ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины».

**Цель работы:** формирование новых терапевтических подходов с использованием пробиотиков и аутопробиотиков у пациентов с ишемической болезнью сердца, направленных на коррекцию дислипидемии для профилактики дальнейшего развития и более эффективного лечения атеросклероза коронарных артерий.

### **Задачи исследования:**

1. Провести исследование пристеночной и просветной микробиоты в фекалиях у обследуемых пациентов;
2. Определить связь нарушений липидного обмена с изменением состава кишечной микробиоты;
3. Провести оценку нарушений состояния микробиоты у пациентов с ИБС в зависимости от наличия дислипидемии и ее вариантов;
4. Оценить влияние гиполипидемической терапии на состав кишечной микробиоты у пациентов с ИБС;
5. Проанализировать эффективность приема пробиотиков и аутопробиотиков для коррекции дислипидемии у пациентов с ИБС.

### **Научная новизна**

Дисбиотические нарушения выявлены у всех больных атеросклерозом с дислипидемией. Коррекция дисбиоза аутопробиотиками эффективна и не уступает коммерческому пробиотику, при этом исключается дополнительная нагрузка на иммунную систему больного. Аутопробиотики в комплексном лечении больных атеросклерозом с дислипидемией применялись впервые.

### **Объем и структура работы**

Дипломная работа изложена на 79 страницах машинописного текста, состоит из введения, обзора литературы, описания материала и методов исследования, результатов собственных исследований, обсуждения результатов, заключения, выводов и практических рекомендаций. Работа содержит 18 таблиц и 10 рисунков. Библиографический указатель включает 69 источников (4 отечественных и 65 зарубежных).

## Глава 1 . ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

### 1.1. Роль кишечной микробиоты в регуляции липидного обмена

Установлено, что в регуляции липидного обмена существенное значение имеет поддержание качественного и количественного состава микрофлоры кишечника. Прослеживается отрицательная обратная связь между разнообразием микробиоты кишечника и индексом массы тела, триглицеридами плазмы и положительная с холестерином ЛПВП в плазме крови. Следовательно, микробиота может объяснить вариабельность липидного профиля независимо от возраста, пола, индекса массы тела и генетики.

Выявлено несколько механизмов влияния микробиоты на липидный обмен. [4]

#### 1.1.1. Синтез проатерогенных метаболитов

Микробиота кишечника метаболизирует метиламинсодержащие питательные вещества, такие как холин, лецитин и L-карнитин, высокое содержание которых регистрируется в красном мясе, яичном желтке, печени, мясе, а также молочных продуктах с высоким содержанием жира. как некоторые орехи и бобы с образованием триметиламина (ТМА). Затем он абсорбируется мембраной энтероцитов и транспортируется в печень, где преобразуется с помощью флавиномоноксигеназ (FMO) в N-оксид триметиламина (ТМАО), обладающий атерогенным действием. [57]

Прослеживается четкая корреляция между уровнем циркулирующего ТМАО и потреблением его метаболитических предшественников, которые получают из пищевых источников. Однако количество продукции ТМАО определяется не только диетическими предпочтениями, но в значительной степени также микробным составом. Исследования показали, что использование антибиотиков широкого спектра действия изменяет состав микробиоты кишечника и снижает уровни ТМАО, что указывает на важность микробиоты кишечника в его метаболизме. Показано, что снижение

потребления L-карнитина и холина с пищей замедляет размножение продуцирующих ТМА-бактерий, при этом концентрация ТМАО в плазме крови остается на низком уровне даже после включения L-карнитина в пищевой рацион людей, длительное время соблюдавших до того строгую вегетарианскую диету. [5,6]

#### 1.1.2. Энтерогепатическая циркуляция и биотрансформация желчных кислот

Показано, что одним из механизмов влияния микрофлоры на метаболизм липидов является участие в энтерогепатической циркуляции и биотрансформации желчных кислот. Первичные желчные кислоты синтезируются печенью, которая превращает гидрофобный холестерин в гидрофильные первичные желчные кислоты, которые выводятся желчным пузырем и реабсорбируются в подвздошной кишке натрий-зависимыми переносчиками желчных кислот. Желчные кислоты влияют на состав микробиоты кишечника и подавляют рост микроорганизмов в тонком кишечнике. Небольшая часть желчных кислот достигает толстой кишки, где микробиота превращает первичные желчные кислоты во вторичные желчные кислоты с помощью нескольких модификаций, включая деконъюгацию, 7 $\alpha$ -дегидроксилирование и 7 $\alpha$ -гидрирование, что приводит к образованию более гидрофобного пула желчных кислот и облегчает их выведение с калом. В результате они замещаются синтезом *de novo* из холестерина по механизму отрицательной обратной связи, что приводит к снижению концентрации холестерина в плазме крови. Вторичные желчные кислоты гидрофобны и поэтому легко абсорбируются колоноцитами и попадают в системный кровоток. Показано, что только 5% желчных кислот покидают энтерогепатический цикл и выводятся из организма. Около 95% желчных кислот всасываются в подвздошной кишке посредством трансмиттеров или их пассивной диффузии и через воротную вену попадают обратно в печень. Бактериально опосредованная деконъюгация снижает всасывание и увеличивает выведение желчных кислот. Первичные желчные кислоты



также могут далее метаболизироваться до вторичных желчных кислот путем дегидрирования, дегидроксилирования и эпимеризации микробиотой толстой кишки, [7,8]

Кроме того, желчные кислоты могут действовать в качестве сигнальных молекул, которые регулируют метаболизм макроорганизма, связываясь с фарнезоеидным рецептором X (FXR), экспрессирующегося на поверхности клеток кишечника, печени, адипоцитах, и рецептором желчной кислоты, связанным с G-белком Takeda TGR5. Ферментативная активность микрофлоры увеличивает разнообразие пула желчных кислот, а они, в свою очередь, различаются по своему сродству к рецепторам и могут действовать как агонисты или антагонисты. Как первичные желчные кислоты, желчная кислота и хенодезоксихолевая кислота, так и вторичные желчные кислоты, литохолевая кислота и дезоксихолевая кислота, являются агонистами FXR, но с разным сродством. [9]

У людей хенодезоксихолевая кислота может трансформироваться в урсodeзоксихолевую кислоту, которая является антагонистом FXR. Кроме того, таурин-конъюгированная желчная кислота ТβМСА мыши, но не ее деконъюгированный аналог βМСА, является антагонистом FXR. [10]

FXR участвует в регуляции метаболизма липидов, в особенности, обмена, синтеза и утилизации триглицеридов. Следовательно, ферментативная обработка микрофлорой желчных кислот может влиять на метаболизм липидов через взаимодействие с FXR. Через FXR осуществляется ауторегуляция синтеза ЖК: при их связывании с FXR в тонкой кишке происходит активация фактора роста фибробластов 15 у мышей (19 у человека), который в свою очередь через рецептор FGF4/b-Klotho гепатоцитов ингибирует холестерол-7альфа-гидроксилазу, ответственную за синтез ЖК. Кроме этого, FXR снижает экспрессию транскрипционного фактора SREBP-1, тем самым подавляя липогенез в

печени, повышает активность липопротеинлипазы, снижает секрецию липопротеинов очень низкой плотности. [11]

Также было показано, что желчные кислоты влияют на метаболизм липидов хозяина через Takeda-рецептор, ассоциированный с G-белком 5 (TGR5). Активация TGR5 в скелетных мышцах и бурой жировой ткани способствует интенсивному расходу энергии путем индуцирования экспрессии рецептора тиреоидных гормонов.

Кроме того, передача сигналов TGR5 индуцирует высвобождение GLP-1 из L-клеток, что приводит к улучшению функции печени и поджелудочной железы у мышей с ожирением и потенциально влияет на синтез и накопление липидов. Продуцируемые микроорганизмами желчные кислоты, литохолевая кислота и дезоксихолевая кислота, действуют как агонисты TGR5, однако влияние микробиоты кишечника на метаболизм макроорганизма через TGR5, на сегодняшний день, недостаточно изучено. [12]

#### 1.1.3. Синтез сигнальных молекул короткоцепочечных жирных кислот

Достоверно известно, что в результате ферментации моносахаридов в толстой кишке образуются различные КЦЖК, такие как ацетат, бутират и пропионат. Они транспортируются через эпителий слизистой оболочки и выступают в роли сигнальных молекул, участвуя в регуляции метаболических процессов и используются в качестве субстратов для производства энергии, липогенеза, глюконеогенеза и синтеза холестерина.

Микробиота, продуцирующая бутират, включает бактерии из семейств Ruminococcaceae и Lachnospiraceae, а также такие бактерии, как *Anaerobutyricum hallii* и *Anaerostipes* spp. Ацетат и пропионат в основном производятся *Bifidobacterium* spp. и бактерии, разлагающие муцин, такие как *Akkermansia muciniphila*. [13] Их субстратом являются неперевариваемые углеводы растительного происхождения и рационы, богатые клетчаткой.

Действие короткоцепочечных жирных кислот реализуется через рецепторы, связанные с G-белком GPR43 / FFAR2 и GPR41 / FFAR3. В частности, ацетат индуцирует антилиполитическую активность и улучшает метаболизм глюкозы и липидов через GPR43 в жировой ткани. [14]

Большая часть производимого ацетата и пропионата всасывается в кишечнике, в то время как бутират используется в качестве основного источника энергии колоноцитами и абсорбируется только в очень малых пропорциях. В результате концентрации ацетата и пропионата в плазме намного выше, чем уровни бутирата в крови. [65]

Особое значение играет масляная кислота - это короткоцепочечная жирная кислота, получаемая в результате ферментации неперевариваемых углеводов сахаролитическими микроорганизмами. Это соединение является одним из наиболее важных метаболитов, вырабатываемых кишечными бактериями, основываясь на его множественном благотворном влиянии на здоровье макроорганизма. К ним относится регуляция ряда процессов, таких как липидный обмен, обмен глюкозы. [13,14]

## 1.2. Значение кишечной микробиоты и ее метаболитов в развитии атеросклероза

В настоящее время, растет число исследований, подтверждающих, что многочисленные метаболиты кишечной микробиоты вносят вклад в развитие атеросклеротических событий. Среди них привлекла внимание роль N-оксида триметиламина (ТМАО) в развитии атеросклероза. Показана связь ТМАО с ишемической болезнью сердца, инфарктом миокарда, сердечной недостаточностью, что позволяет рассматривать ТМАО как фактор риска развития заболевания сердечно-сосудистой системы. Вполне вероятно, что регулирование выработки ТМАО и связанной с ним микробиоты кишечника может стать многообещающей стратегией терапии атеросклероза. [57] Два метаанализа пришли к выводу, что повышенные уровни ТМАО были связаны с более высоким риском сердечно-сосудистых событий и более высокой смертностью от всех причин с относительными рисками в диапазоне от 55% до 62%. [15,16] В свою очередь, один из мета-анализов показал, что каждое приращение ТМАО на 10 мкмоль / л соответствует увеличению риска смерти от всех причин на 7,6%. [58]

Механизмы, с помощью которых ТМАО способствует атеросклерозу, на сегодняшний день, представляются сложными и недостаточно изученными. ТМАО участвует в патологическом процессе развития атеросклероза, способствуя миграции макрофагов, а также превращению макрофагов в пенистые клетки. Было показано, что ТМАО увеличивает продукцию провоспалительных цитокинов, таких как TNF-альфа и IL-1B, и снижает противовоспалительные цитокины, такие как IL-10. [60] В ответ на активацию воспаления макрофаги могут проникать через эндотелиальный барьер и, накапливаясь в интиме сосудов, способствовать образованию атеросклеротических бляшек. [59]

ТМАО также может способствовать развитию атеросклероза, ингибируя обратный транспорт холестерина и индуцируя каскад синтеза сигнальных молекул, стимулирующих развитие атеросклероза в клетках эндотелия и

гладкой мускулатуры сосудов, центральным компонентом которого является транскрипционный фактор NF-κB. Использование ингибиторов NF-κB приводило к блокированию экспрессии указанных генов, индуцированных ТМАО. [17]

Также было показано, что ТМАО, продуцируемый кишечной микробиотой, и его диетические предшественники участвуют в развитии эндотелиальной дисфункции. Мыши, получавшие диету, богатую холином, демонстрировали развитие дислипидемии и гипергликемии, сопровождающиеся выраженным повреждением эндотелия сосудов [61]. Одно из исследований впервые продемонстрировало, что повышенный уровень ТМАО в плазме был значительно связан с нарушением функции эндотелия, усилением воспалительных процессов и уменьшением количеством циркулирующих эндотелиальных клеток-предшественников (ПЭК) у пациентов со стабильной стенокардией [62]. Затем исследование подтвердило, что высокие уровни ТМАО ингибируют циркулирующие ПЭК за счет усиления воспаления и окислительного стресса, что в конечном итоге приводит к эндотелиальной дисфункции.

Было обнаружено, что ТМАО ускоряет развитие атеросклероза, нарушая метаболизм липидов, особенно метаболизм холестерина. Холестерин переносится из периферических тканей в печень и кишечник для экскреции с калом; однако этот основной путь, обозначенный как обратный транспорт холестерина, может быть ингибирован ТМАО, чему способствует повышение экспрессии скэвенджер-рецепторов макрофагов.

Нарушение нормального обмена желчных кислот также приводит к развитию и прогрессированию атеросклероза. ТМАО подавляет синтез фермента холестерол-7-альфа-1-гидроксилазы в печени, который является ключевым в ходе печеночной конверсии холестерина желчные кислоты, в конечном итоге выводимые с калом. [63]

Помимо атеросклероза, повышенные уровни ТМАО также связаны с частотой тромботических событий и активацией тромбоцитов [18].

Подтверждение определяющей роли кишечной микробиоты в инициации данного метаболического пути продемонстрирована в крупном исследовании Tang и соавт. 2013 г. Авторы изучали уровень ТМАО в плазме в зависимости от предшествующего курса терапии антибиотиками широкого спектра действия у пациентов, получавших в пищу вареные яйца с желтком вместе с эквивалентным количеством фосфатидилхолина, меченого дейтерием. По результатам исследования, было показано, что уровень ТМАО и его предшественника триметиламина (ТМА) был значительно выше у пациентов, предварительно не получавших антибиотикотерапию, что позволяет подтвердить облигатную роль микробиоты в образовании ТМАО. Во второй части работы, была обнаружена связь между повышенным уровнем ТМАО и риском развития основных неблагоприятных сердечно-сосудистых событий. Таким образом, у пациентов из последнего квартиля, с наибольшей концентрацией ТМАО в плазме, риск был в 2,5 раза больше, чем у пациентов из первого квартиля. [19]

В ряде исследований была продемонстрирована корреляция между концентрацией уровня ТМАО и риском сердечно-сосудистых событий в течение ближайших двух лет. [20] Исследование оптической когерентной томографии пациентов с острым коронарным синдромом продемонстрировало, что уровни ТМАО были связаны с прогрессированием поражения коронарных сосудов и долгосрочными рисками сердечно-сосудистых событий у пациентов с острым коронарным синдромом. Концентрации ТМАО в плазме были значительно выше у пациентов с инфарктом миокарда с подъемом сегмента ST и увеличивали риск MACE и повторного инфаркта у пациентов, перенесших острый инфаркт миокарда. Авторы предположили, что ТМАО может быть предложен как один из

биомаркеров для прогнозирования дестабилизации атеросклеротической бляшки у пациентов с острым инфарктом миокарда в анамнезе. [21-23]

Атеросклероз, как основная причина сердечно-сосудистых заболеваний, традиционно считается заболеванием, ассоциированным с нарушениями липидного обмена. Однако многочисленные исследования показали, что на атеросклероз оказывает влияние и цитокиновая регуляция иммунных процессов. Более того, исследование CANTOS продемонстрировало, что применение антител против IL-1 $\beta$  снижает частоту повторных сердечно-сосудистых событий у пациентов с перенесенным инфарктом миокарда, указывая на то, что воспаление увеличивает риск сердечно-сосудистых заболеваний у людей. [24] Известно, что кишечная микробиота участвует в становлении иммунной системы в раннем возрасте. Недавние исследования показали роль микробиоты кишечника в регуляции воспаления, влияя на дифференцировку различных типов провоспалительных агентов и выработку цитокинов. Подчеркивается, что изменения в составе кишечной микробиоты могут привести к развитию системного воспаления, ожирения и связанных с ним метаболических заболеваний. Кроме того, было продемонстрировано, что атеросклероз связан с измененным метагеномом кишечника в человеческой популяции. [25]

Причинные доказательства состава кишечной микробиоты при атеросклерозе продемонстрированы при трансплантации фекальной микробиоты в исследованиях на животных. В исследовании Nam H.S. и соавт. 2019 г. авторы изучали причинно-следственную связь между составом микробиоты, воспалительными агентами и атеросклерозом. Они перорально вводили антибиотики широкого спектра действия в течение 10 дней самкам мышей Ldlr - / -, а затем трансплантировали им фекальную микробиоту от мышей Casp1 - / -, имеющих измененный состав микробиоты с более выраженными провоспалительными свойствами. Аутологичная трансплантация фекальной микробиоты мышей Ldlr - / - служила контролем.

Мышей содержали вместе и кормили пищей, богатой холестерином, или кормом с высоким содержанием жиров. Анализ размера атеросклеротического поражения в корне аорты показал значительное увеличение размера бляшек на 29% у мышей *Ldlr* - / - ( *Casp1* - / - ), получавших пищу с высоким содержанием холестерина, по сравнению с *Ldlr* - / - ( *Ldlr* - / - ) мышей.

Кроме того, авторы обнаружили повышение количества циркулирующих моноцитов и нейтрофилов, а также провоспалительных цитокинов в плазме у *Ldlr* - / - ( *Casp1* - / - ), получавших диету с высоким содержанием холестерина. Анализ последовательности, кодирующей 16S-рДНК, в фекалиях выявил значительное снижение различных штаммов микроорганизмов, продуцирующих короткоцепочечные жирные кислоты у *Ldlr* - / - ( *Casp1* - / - ) мышей. В соответствии с этими данными, концентрации противовоспалительных короткоцепочечных жирных кислот пропионата, ацетата и бутирата в слепой кишке были значительно снижены у *Ldlr* - / - ( *Casp1* - / - ), получавших питание с высоким содержанием холестерина в течение 13 недель, по сравнению с *Ldlr* - / - ( *Ldlr* - / - ) мыши. КЦЖК обладают противовоспалительными свойствами и могут подавлять активность NF-κB (ядерного фактора κB) в иммунных клетках, что приводит к снижению продукции провоспалительных цитокинов, включая IFN-γ, IL-1β и IL-2. Недавно было показано, что пероральный прием бутирата ослабляет адгезию и миграцию макрофагов и снижает концентрацию провоспалительных цитокинов в атеросклеротических бляшках. [26]

Отдельные исследования показали, что отмечается более высокая численность рода *Collinsella*, *Enterobacteriaceae*, *Streptococcaceae* и *Klebsiella* spp. и более низкая численность бактерий, продуцирующих КЦЖК, таких как *Eubacterium*, *Roseburia* и *Ruminococcaceae* spp. в микробиоте кишечника пациентов с симптоматическим атеросклерозом по сравнению со здоровым контролем [27]. Было показано, что скорость пульсовой волны (PWV),



которая является мерой артериальной жесткости, была связана с более низким разнообразием и меньшим количеством бактерий, продуцирующих КЦЖК, у женщин среднего возраста в когорте TwinUK [28]. Исследование ассоциации в масштабе всего метагенома показало, что численность *Enterobacteriaceae* и *Streptococcus spp.* были выше у пациентов с атеросклеротическим сердечно-сосудистым заболеванием, чем у здоровых людей. [29,30]

### 1.3. Влияние статинов на кишечную микробиоту

На сегодняшний день, статины занимают лидирующие позиции в терапии гиперхолестеринемии и профилактике кардиоваскулярных событий. Влияние статинов на метаболические процессы также можно объяснить изменением микробиоты кишечника. Таким образом, модуляция микробиоты кишечника статинами играет важную роль в терапевтическом действии этих препаратов.

Известно, что они оказывают влияние на состояние кишечной микробиоты путем ингибирования ГМГ-КоА редуктазы, которая участвует в синтезе изопреноидов некоторыми ее представителями. Кроме того, при назначении комбинированной гиполипидемической терапии симвастатина в сочетании с эзетимибом значительно уменьшается количество лактобактерий в кишечнике, тогда как при назначении эзетимиба в виде монотерапии, напротив, происходило существенное увеличение их числа. При этом была выявлена связь с экспрессией генов, обеспечивающих захват липопротеидов низкой плотности и синтез холестерина в печени [31].

Исследования в отношении воздействия статинов на кишечную микробиоту весьма противоречивы. Имеются данные о положительном влиянии на восстановление бифидобактерий в отношении аторвастатина, количество которых снижено у пациентов с гиперхолестеринемией. В ряде исследований выявлены одноклеточные бактерии из атеросклеротических бляшек и фекалий: *Collinsella*, *Streptococcus* и *Prevotella*. Авторы предположили, что прием аторвастатина может способствовать повышению активности и восстановлению числа «противовоспалительных» микробов и подавлению роста «провоспалительных», в том числе колонизирующих атеросклеротическую бляшку [32]. Аторвастатин и розувастатин значительно увеличивали количество представителей *Bacteroides*, *Butyricimonas* и *Mucispirillum*.

Кроме того, в последние годы было показано, что статины обладают антибактериальной активностью в отношении широкого спектра грамположительных представителей микробиоты ротовой полости (*Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus anginosus*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus salivarius* и *Streptococcus sanguinis*), кишечника (*Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Lactobacillus casei* и метициллин-чувствительных *Staphylococcus aureus*), а также микроорганизмов с лекарственной устойчивостью (VRE, MRSA, VRSA). Доказано, что наиболее выраженным эффектом обладает симвастатин, особенно в отношении энтеро-, стрепто- и стафилококков. В единственном исследовании, напрямую сравнивавшем все статины между собой, также только симвастатин обладал антибактериальным действием в отношении MRSA. В свою очередь, аторвастатин был более активен, чем симвастатин в отношении *Escherichia coli* и *Acinetobacter baumannii* [33].

Хотя эффективность статинов в лечении гиперлипидемии была оценена в многочисленных рандомизированных исследованиях, остаются споры об их безопасности, главным образом, из-за возникновения ряда побочных эффектов. Стоит обратить внимание на то, что в недавних работах было показано, что терапия статинами правастатином и аторвастатином приводила к дисбактериозу кишечника у самок мышей HFD-fed C57BL/6. Это исследование демонстрирует, что терапия статинами приводит к глубокому ремоделированию микробиоты кишечника, нарушение регуляции экспрессии генов печени, участвующих в метаболизме липидов, и метаболическим изменениям у мышей через PXR-зависимый механизм. Разнообразие микроорганизмов было несколько увеличено, в то время как равномерность распределения видов уменьшилась, предполагается, что в кишечной микробиоте доминировало ограниченное число видов. Соответственно, общий таксономический состав кишечника был нарушен, причем этот дисбаланс был более выражен после лечения аторвастатином.

Кроме того, установлено, что на фоне приема статинов снижается количество сахаролитических бактерий, продуцирующих бутират, одного из важнейших интестинальных компонентов, влияющий на коррекцию липидного обмена, метаболизм глюкозы и мышечную ткань. [34] Аналогичные результаты продемонстрировал розувастатин, который был назначен перорально лабораторным животным. Он оказывал существенное влияние на состав кишечной микрофлоры, метаболизм желчных кислот и на транскрипцию генов, кодирующих факторы, участвующих в поддержании гомеостаза и иммунного статуса желудочно-кишечного тракта [35]. Для оценки того, приводили ли наблюдаемые изменения в микробиоте кишечника в ответ на статины к изменению метаболизма короткоцепочечных жирных кислот, анализировали их состав в содержимом слепой кишки и сыворотке крови контрольной и получавшей статины группы. В соответствии с наблюдаемым таксономическим составом терапия статинами приводила к резкому снижению продукции масляной кислоты, тогда как уровни уксусной, пропионовой и валериановой кислот оставались неизменными как в группе, получавшей статины, так и в контрольной группе. Соответственно, масляная кислота была обнаружена только в сыворотке крови контрольных мышей, тогда как концентрация уксусной кислоты достоверно не отличалась во всех исследуемых группах. Эти изменения отображают функциональную неполноценность микробиоты кишечника в ответ на терапию статинами. [36].

В работе Zhao C. и соавт. результаты показали, что терапия аторвастатином и флувастатином значительно изменила структуру бактериальной микробиоты кишечника: присутствие флувастатина способствовало росту *Escherichia* spp. *Shigella* spp. , *Ruminococcaceae* UCG 014 и *Sutterella*. Кроме того, количество короткоцепочечных жирных кислот также значительно снизилось в образцах, полученных после приема флувастатина. [66].

В исследовании Caparrós-Martín J.A. и соавт., было продемонстрировано, что терапия статинами вызывает глубокое ремоделирование микробиоты кишечника, нарушение регуляции генов печени и метаболические изменения у мышей посредством PXR-зависимого пути. Кроме того, терапия статинами снизила разнообразие кишечного сообщества, и, в соответствии с этим, группа *Bacteroides* доминировала в кишечнике мышей, получавших статины. [67].

Эти работы открывают новые перспективы для предотвращения непреднамеренных метаболических эффектов, связанных со статинами.

#### 1.4. Применение методов коррекции дисбиоза кишечника с использованием пробиотиков у пациентов с дислипидемией

Пробиотики представляют собой живые микроорганизмы, которые способствуют нормализации состава и повышению биологической активности нормальной микрофлоры кишечника. Они могут быть использованы в качестве альтернативных компонентов положительного воздействия на коррекцию метаболических нарушений. Потенциальные механизмы, обуславливающие влияние на липидный обмен, включают: деконъюгацию солей желчных кислот, уменьшение абсорбции холестерина за счет совместного осаждения кишечного холестерина с деконъюгированными солями желчи, включение и ассимиляция холестерина в клеточную мембрану пробиотиков, кишечная конверсия холестерина в копростанол, ингибирования экспрессии переносчика кишечного холестерина (NPC1L1) в энтероцитах. Однако гипохолестеринемические эффекты варьируют в зависимости от используемых штаммов, физиологического состояния макроорганизма и основной рацион, к которому добавляют пробиотики. [37]

На сегодняшний день, использование пробиотиков в качестве нефармакологической альтернативы для коррекции нарушений липидного обмена, представляется недостаточно изученным. Гиполипидемические эффекты пробиотиков были исследованы как *in vitro*, так и *in vivo*, хотя были получены противоречивые результаты.

Некоторые исследования выступают против этой роли пробиотиков в коррекции нарушений липидного обмена. [38,39] Хотя многие работы продемонстрировали способность некоторых бактериальных штаммов к снижению общего холестерина, холестерина ЛПНП, ТГ и повышение уровня холестерина высокой плотности. [40-42]

В ряде исследований наблюдались положительные эффекты только при комбинации пробиотиков с другими видами терапии. Изофлавоны сои и

пробиотики показали значительный синергетический эффект, который не наблюдался в группах, получавших только добавки. [44] Кроме того, физические упражнения в сочетании с приемом пробиотиков стимулировали повышение уровня холестерина ЛПВП. [43]

В ряде исследований предполагается, что пробиотики, содержащие микроорганизмы, продуцирующие КЦЖК, включая *Bifidobacterium*, *Enterococcus* и *Lactobacillus*, обладают множеством преимуществ, включая противовоспалительные и благоприятные метаболические эффекты. [45]

Потребление различных пробиотиков, таких как *Lactobacillus plantarum*, может снизить выработку ТМАО и ослабить развитие атеросклероза у мышей ApoE - / -. [64]

Согласно мета-анализу, проведенному Wang L. И др., включающий изучение и представление данных 32 рандомизированных исследований, было показано, что по сравнению с контрольной группой уровень триглицеридов в сыворотке крови был значительно снижен в группе пациентов, которые получали пробиотики. Кроме того, специфические штаммы, такие как *L. acidophilus* и *B. lactis*, значительно снижали уровень общего холестерина (ОХ) в сыворотке крови. Анализ в подгруппах показал, что разница в исходных значениях общего ОХ, формах пробиотиков и продолжительности вмешательства может оказать существенное влияние на результаты: более высокое базовое значение ОХ, более длительное время терапевтического воздействия и использование пробиотиков в форме капсул продемонстрировали достаточно хорошее воздействие на липидный профиль. Однако штаммы и дозы пробиотиков не оказывали существенного влияния на лечебные эффекты. [46]

Согласно другим данным, эффективность приема пробиотических препаратов зависит от штамма, что позволяет с осторожностью проводить обобщение данных о преимуществах терапии пробиотиками. [47] Кроме

того, было показано, что сочетание разных штаммов дает лучшие результаты. [48]

Значительное снижение ЛПНП наблюдалось для четырех пробиотических штаммов: *Lactobacillus reuteri* NCIMB 30242, *Enterococcus faecium* и комбинации *Lactobacillus acidophilus* и *Bifidobacterium lactis* Bb12. Два синбиотики, *L. acidophilus* в сочетании с инулином и *L. acidophilus* в сочетании с фруктоолигосахаридами, также снижали уровень ЛПНП. [49]

По данным исследования Rerksupphaphol S и соавт., комбинация *Lactobacillus acidophilus* и *Bifidobacterium bifidum*, применяемая в форме капсул, приводила к снижению уровня общего холестерина в сыворотке и холестерина ЛПНП у пациентов с гиперхолестеринемией в течение шести недель, не получавших гиполипидемическую терапию. Однако не было отмечено влияния на уровень триглицеридов в сыворотке крови. *Lactobacillus* и *Bifidobacterium* являются молочнокислыми бактериями, которые экспрессируют на своей поверхности гидролазу желчных солей. Предполагается, что она снижает уровень холестерина в сыворотке крови за счет взаимодействия с метаболизмом желчных солей хозяина. Потенциальным механизмом снижения уровня холестерина в пробиотиках является поглощение холестерина растущими клетками, после чего осуществляется перенос внутриклеточного холестерина на клеточную поверхность, включение холестерина в клеточную мембрану и копреципитация холестерина с деконъюгированным гидролизатом желчных солей. [50]

Согласно другим данным, потребление пробиотика *Lactobacillus* значительно снижало общий холестерин на 0,26 ммоль/л и холестерин ЛПНП на 0,23 ммоль/л. Анализ исследований выявил значительное снижение общего холестерина с использованием *L. plantarum* и снижение ЛПНП с использованием *L. plantarum* или *L. reuteri*. Не было обнаружено значимых эффектов на уровни ТГ и ЛПВП после приема пробиотика *Lactobacillus*. В то



же время, анализ подгрупп обнаружил значительное положительное влияние на ТГ и ЛПВП при потреблении пищи, содержащей *L. sporogenes* и инулин. [51]

Существует исследование, в рамках которого было показано, что ежедневное употребление 80 мл ферментированного молока с *B. lactis* показало значительное снижение индекса массы тела, общего холестерина и липопротеина низкой плотности по сравнению с исходными значениями и значениями контрольной группы. [52]

Согласно данным другого мета-анализа, включающего 11 рандомизированных клинических испытаний, пробиотические препараты приводили к изменениям общего холестерина и холестерина липопротеинов низкой плотности. Уровни холестерина ЛПВП достоверно не различались в группе пациентов, принимающих пробиотики, и контрольной группе. Кроме того, было показано, что длительный, более 4-недельный прием пробиотических препаратов был более эффективным для снижения общего холестерина и ХС ЛПНП, чем краткосрочное (менее 4-недельное) терапевтическое воздействие. Снижение уровней общего холестерина и ЛПНП было более выраженным у пациентов с умеренной гиперхолестеринемией. Штамм *Gaio* и *Lactobacillus acidophilus* снижали уровни общего холестерина и ЛПНП в большей степени, чем другие бактериальные штаммы. [53]

В ряде исследований было показано, что снижение общего холестерина и ЛПНП отмечалось значительно больше у пожилых людей, чем у молодых людей, что связано с различиями в исходных значениях, поскольку у пожилых людей они были выше. Что касается ИМТ, снижение общего холестерина и ЛПНП не имело существенных различий у людей с нормальным весом и с избыточной массой тела.

Согласно данным мета-анализа Мо R. и др., включающего 19 рандомизированных клинических испытаний, прием пробиотических препаратов приводил к снижению общего холестерина и холестерина ЛПНП по сравнению с группой контроля на 0,25 ммоль/л и 0,17 ммоль/л соответственно. Кроме того, эффекты при их применении были более выражены при длительных интервалах вмешательства. Однако не было обнаружено значительного влияния пробиотиков на уровни триглицеридов и холестерина липопротеинов высокой плотности. [54]

В целом, можно сказать, что способность пробиотиков к снижению сывороточных липидов ограничена по сравнению с лечением статинами. Тем не менее, пробиотики имеют целый ряд преимуществ, оказывая как прямое, так и опосредованное воздействие в отношении метаболических процессов и качества жизни в долгосрочной перспективе. Неоднозначные результаты различных исследований могут быть результатом специфичности и комбинации используемых штаммов, вводимых доз, продолжительности исследований и других внешних переменных. Эффективность пробиотиков зависит как от конкретного заболевания, так и от штамма, подчеркивая необходимость хорошо спланированных исследований, изучающих состав микробиоты кишечника до и после вмешательства.

## 1.5. Применение аутопробиотиков в современной клинической практике

Методики ремоделирования кишечной микробиоты, в настоящее время, как путь воздействия на метаболический профиль макроорганизма являются интересным предметом для изучения. Становится очевидным, что с приемом пробиотиков или в результате фекальной трансплантации в большинстве случаев и при все более широком спектре патологий удастся достичь значимых клинических эффектов. Однако пробиотики и фекальная трансплантация не учитывают индивидуальные особенности микробиоты каждого конкретного пациента, к которой адаптирована его иммунная система.

Персонализированный подход, основанный на использовании индивидуальных бактериальных штаммов, был оценен для восстановления микробиоты на модели антибиотико-ассоциированного дисбиоза. Лечение различными штаммами аутопробиотиков привело к быстрому восстановлению микробиоты по сравнению с животными, не получавшими лечения аутопробиотиками.

Было установлено, что микробный состав кишечника претерпевает наиболее значительные изменения в течение первых 3 лет жизни. Это позволяет установить иммунную толерантность к местной микробиоте и дифференцировать микробиоту человека от аллохтонных бактерий, грибов и вирусов. Эти открытия позволили лучше понять причины многочисленных заболеваний, связанных с дисбактериозом, включая воспалительные заболевания кишечника, рассеянный склероз, диабет (типы 1 и 2), бронхиальную астму, аутизм и онкологию. В большинстве случаев исход лечения многих инфекционных или неинфекционных заболеваний связан с восстановлением состава микробиоты до исходного здорового состояния. Этот факт повлиял на многочисленные исследования эффектов бактериальной терапии, включая пробиотики или трансплантацию фекальной микробиоты, когда микробиота трансплантируется от здорового донора.

Основным ограничением этих подходов является то, что полученные извне микроорганизмы могут быть чужеродными для иммунной системы реципиента.

При лечении тяжелых псевдомембранозных колитов, болезни Паркинсона, рассеянного склероза результатов удалось добиться, применяя фекальную трансплантацию. В то же время, отсроченные эффекты данного подхода невозможно спрогнозировать, не говоря о малоприятной процедуре введения препарата фекалий в организм и опасности инфицирования.

Поэтому, в настоящее время, применение индигенных бактерий (аутопробиотиков) является одним из перспективных путей преодоления перечисленных проблем. Аутопробиотики основаны на другой стратегии микробной терапии. Он включает в себя *in vitro* культивирование индивидуальных штаммов микроорганизмов и приготовление персонализированного препарата для использования в восстановлении микробиоты.

Доказано, что микробиота каждого человека индивидуальна и обладает большим резервом устойчивости к различным воздействиям, включая появление болезнетворных микроорганизмов и токсинов. К настоящему времени очевидно, что для скорейшего восстановления здоровья пациента критичным является сокращение периода между началом дисбиотических изменений в организме и их ликвидацией за счет восстановления индигенной микробиоты. В связи с этим большое значение приобретают исследования, посвященные приготовлению и использованию в клинической практике средств, основанных на введении собственных микроорганизмов в участки их нормальной колонизации – аутопробиотиков.

Применение аутопробиотиков в настоящее время используется в основном в практике врачей-гастроэнтерологов.

Российский микробиолог Б. Шендеров первым начал использовать индигенные бактерии для лечения дисбактериоза. Он разработал и запатентовал подход, основанный на применении собственных лактобацилл и бифидобактерий для восстановления микробиоты. В настоящее время, Суворов и соавт., продемонстрировали другую стратегию лечения дисбактериоза, используя генетически протестированные бактерии, полученные от пациентов, выращенные в лабораторных условиях и предоставленные пациентам в виде кисломолочных продуктов. [55]

Предлагаемый способ приготовления персонифицированного пробиотика нового поколения на основе анаэробного консорциума бактерий (аутопробиотика) принципиально отличается от традиционных пробиотиков тем, что является уникальным для каждого отдельного индивидуума.

Индивидуально подобранные и культивируемые пробиотические штаммы лактобацилл или энтерококков успешно прошли клинические испытания на пациентах с синдромом раздраженного кишечника (СРК) и пневмонией. Аутопробиотические молочные ферментированные бактериальные продукты на основе энтерококков или лактобацилл были способны восстанавливать микробиоту в различных клинических условиях, включая воспалительные заболевания кишечника.

Кроме того, ряд аутопробиотиков в определенной степени смогли улучшить ряд иммунологических параметров. Иммунологическое исследование было сосредоточено на основных иммунологически установленных ориентирах, представляющих состояние воспаления слизистой оболочки кишечника - маркерах Т-клеток, таких как FoxP3 + CD 25 в селезенке и крови, В, НКТ-клетках и содержании регуляторных цитокинов IL-10 в крови. Прием некоторых аутопробиотиков характеризовался значительным увеличением регуляторных цитокинов IL-10 и CD 25 + FoxP3 + Т-клеток, что отражает характерную противовоспалительную тенденцию. По-видимому, разные препараты

аутопробиотиков могут быть полезны при разных патологических состояниях, связанных с различными вариантами дисбактериоза. Однако необходимы дальнейшие исследования, чтобы полностью понять влияние аутопробиотиков на терапию дисбактериоза. [56]

## ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

### 2.1. Общая характеристика обследованных пациентов

Исследование проводилось на базе кардиологического отделения Санкт-Петербургской клинической больницы Российской академии наук и ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины». Для работы были отобраны 49 человек. Первую группу составили пациенты с верифицированной ИБС (n=33) ( $53,33 \pm 10,75$  лет). Вторую группу (n=16) составили пациенты без ИБС ( $42,12 \pm 10,03$  лет).

**Таблица 1**

	ИБС (n=33)	Без ИБС (n=16)	p-критерий
Возраст, лет	$53,33 \pm 10,75$	$42,12 \pm 10,03$	0,003
ИМТ, кг/м <sup>2</sup>	$29,53 \pm 4,73$	$26,29 \pm 6,00$	0,045

Параллельно проводили оценку показателей в следующих подгруппах: наличие дислипидемии (n=25) ( $49,04 \pm 9,73$  лет), среди которых у пациентов была дислипидемия 2А (n=8) ( $49,62 \pm 9,34$  лет) и смешанная дислипидемия (n=17) ( $48,37 \pm 10,38$  лет) и дислипидемия отсутствует (n=24) ( $55,08 \pm 12,53$  лет). Кроме того сопоставляли пациентов по наличию факта получаемой терапии: принимали статины (n=28) ( $57,46 \pm 8,05$  лет) и не принимали статины (n=21) ( $44,71 \pm 11,47$ ).

**Таблица 2**

**Сравнительная характеристика уровней липидов и глюкозы  
плазмы крови у обследованных пациентов**

	ИБС (n=33)	Без ИБС (n=16)	p-критерий
ОХ, ммоль/л	5,30±1,38	4,65±1,42	0,138
ТГ, ммоль/л	1,95 ±161	1,46±0,82	0,268
ЛПНП, ммоль/л	3,31±1,00	2,82±0,89	0,092
ЛПВП, ммоль/л	1,14 ±0,37	1,27±0,31	0,202
Глюкоза плазмы, ммоль/л	6,06±1,36	4,80±1,98	0,012

Различия достигают статистической значимости по уровню глюкозы крови ( $p=0,012$ ). По остальным показателям пациенты в двух группах сопоставимы ( $p>0,05$ ).

**Таблица 3**

**Количество пациентов с выявленными нарушениями липидных  
компонентов плазмы крови**

Показатели	ИБС (n=33)	Без ИБС (n=16)
ТГ >1,7 ммоль/л	11 (33,3%)	4 (25%)
ОХ >5,2 ммоль/л	8 (24,2%)	6 (37,5%)
ЛПВП <0,9 ммоль/л	5 (15,2%)	1 (6,25%)
ЛПНП >3,4 ммоль/л	7 (21,2%)	6 (37,5%)



Для изучения эффективности медицинской технологии «Диагностики состояния кишечной микробиоты и лечение ее изменений аутопробиотиками и пробиотиками у пациентов с атеросклерозом» было проведено клиническое исследования, в котором пациенты с атеросклерозом, дислипидемией, (n=50) методом случайной выборки были поделены на 3 группы. Группы были сравнимы по полу, возрасту, длительности основного заболевания.

Первая группа пациентов (20 человек) получала персонифицированную терапию на фоне базовой терапии, включавшей статины, нитраты, ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента, бета-адреноблокаторы или блокаторы кальциевых каналов, антиагреганты. Пациенты принимали аутопробиотик в виде жидкой безмолочной закваски, содержащий 108 КОЕ/мл аутоэнтерококков, в дозе 100 мл/сутки - по 50 мл 2 раза в день в течение 20 дней.

Вторая группа пациентов (20 человек) на фоне базовой терапии получала терапию пробиотиком «Авена-Био» в виде безмолочной закваски, содержащей *Enterococcus faecium* L-3, в титре 108 КОЕ/мл в дозе 100 мл/сутки - по 50 мл 2 раза в день в течение 20 дней.

Третья группа пациентов (10 человек) – контрольная – получала только базовую терапию.

Критерии исключения:

1. Хроническая болезнь почек 3b стадии и более (скорость клубочковой фильтрации – скорость клубочковой фильтрации (СКФ) <30 мл/мин/1,73 м<sup>2</sup>);
2. Фракция выброса левого желудочка <40%;
3. Онкологические заболевания;
4. Заболевания крови и иммунной системы;

5. Приём цитостатиков, кортикостероидов, антацидов и других иммуномодуляторов, пробиотиков, антибиотиков или противомикробных агентов в течение 30 дней до сбора проб;
6. Наличие органического заболевания пищеварительной системы; перенесённые оперативные вмешательства на желудочно-кишечном тракте;
7. Злоупотребление алкоголем;
8. Наличие сахарного диабета или других заболеваний, которые могут повлиять на кишечную микробиоту.

## 2.2. Методы исследования

Проводили сравнительные клиническую и микробиологическую оценки влияния терапии в 3 точках: (1) перед началом аутопробиотической/пробиотической терапии, (2) после окончания аутопробиотической/пробиотической терапии, (3) через полгода.

Всем пациентам проводили клинико-лабораторное обследование, включавшее скрининговые лабораторные тесты (клинический анализ крови, общий анализ мочи, липидограмма, уровень глюкозы плазмы), электрокардиограмму в 12 отведениях. Проводилось измерение АД, определялся индекс массы тела, выполнялись исследование микробиоценоза кишечника бактериологическим методом и ПЦР-РВ кала. Масса тела была оценена по индексу Кетле ( $\text{кг}/\text{м}^2$ ), который рассчитывался как отношение массы ( $\text{кг}$ ) к квадрату роста ( $\text{м}$ )<sup>2</sup>.

Исследование крови на липидный спектр (ОХ, ТГ, ЛПВП, ЛПНП) проводилось ферментативным методом с использованием диагностикумов для определения липопротеинов сыворотки крови человека.

Клиническая оценка проводилась на основании динамики выраженности таких жалоб, как дискомфорт в эпигастральной области, метеоризм.

Аутопробиотический продукт в виде жидкой безмолочной закваски на основе полученных штаммов индигенных бактерий назначался перорально по 50 мл 2 раза в день (утром и вечером). Курс аутопробиотической терапии составлял 20 дней с последующим контролем состояния кишечного микробиоценоза. В течение всего курса лечения аутопробиотический продукт хранился в холодильнике при температуре 4-7 С.

Медицинская технология осуществлялась поэтапно:

1. Обследование пациента (посев фекалий) для выявления характера дисбиотических расстройств
2. Приготовление аутопробиотика

- Высевы ауто-бактерий из фекалий пациента на агаризованные питательные среды
  - Идентификация чистой культуры аутопробиотика
  - Определение наличия факторов патогенности выделенных аутоштаммов
  - Отбор апатогенных аутоштаммов и первичное культивирование индивидуальных клонов бактерий
3. Изготовление аутопробиотика на безмолочной основе (закваски)
  4. Двухнедельный курс аутопробиотической терапии по 50 мл закваски 2 раза в день
  5. Контрольное микробиологическое исследование кала.

### 2.3. Методы статистической обработки результатов

Статистическая обработка результатов проводилась в R версии 4.0.2 с использованием среды Rstudio версии 1.3.1073. Проверка на нормальность распределения проводилась с помощью критерия Шапиро-Уилка. Попарные сравнения между основными группами по количественным показателям проводились с помощью t-критерия при условии нормального распределения показателей в обеих группах. При отклонении количественных показателей от нормального распределения использовался критерий Манна-Уитни для двух групп. Для оценки различий качественных показателей использовался критерий хи-квадрат, при распределении минимально ожидаемых событий меньше 5 использовался точный критерий Фишера. Поправка на множественные сравнения не производилась в связи с разведочным характером работы, направленным на поиск гипотезы об имеющихся различиях в исследуемых подгруппах. Для апостериорной (post-hoc) оценки значимости попарных различий по факторам с более 2мя категориями в таблицах сопряженностей размерности более 2x2 использовался подход, основанный на множественной регрессии, предложенный Beasley et al. 1995.

Для оценки различий в дополнительных подгруппах использовали многофакторный дисперсионный анализ (ANOVA). При несоблюдении условий использования параметрического дисперсионного анализа (нормальность распределения во всех подгруппах, гомоскедастичность, сбалансированность подгрупп) результаты параметрических тестов проверяли в доступных непараметрических аналогах из пакета WRS2 для R. Различия признались статистически значимыми при уровне  $p < 0,05$ .

Анализ корреляции показателей липидограммы с показателями микробиоты проводился с помощью коэффициента корреляции Спирмена. С помощью базовой графики R и пакета ggplot2 строили диаграммы рассеяния для оценки характера взаимосвязи между оцениваемыми переменными.

## ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### 3.1. Исследование пристеночной и просветной микробиоты в фекалиях у обследуемых пациентов

Таблица 4

Результаты ПЦР-РВ кала

	ИБС (n=33)	Без ИБС (n=16)	p-критерий
Общая бактериальная масса	$6,9 \cdot 10^{11} \pm 8,3 \cdot 10^{11}$	$5,5 \cdot 10^{11} \pm 5,3 \cdot 10^{11}$	0,550
Lactobacillus spp.	$7,1 \cdot 10^6 \pm 1,4 \cdot 10^7$	$2,3 \cdot 10^7 \pm 3,3 \cdot 10^7$	0,023
Bifidobacterium spp.	$3,9 \cdot 10^9 \pm 8 \cdot 10^9$	$4,9 \cdot 10^9 \pm 3,3 \cdot 10^9$	0,380
Escherichia coli	$3,9 \cdot 10^8 \pm 1 \cdot 10^9$	$1,5 \cdot 10^8 \pm 4,9 \cdot 10^8$	0,375
Bacteroides fragilis group	$6,3 \cdot 10^{11} \pm 8,8 \cdot 10^{11}$	$3,5 \cdot 10^{11} \pm 4 \cdot 10^{11}$	0,229
Faecalibacterium prausnitzii	$2,3 \cdot 10^{10} \pm 4 \cdot 10^{10}$	$1,5 \cdot 10^{10} \pm 1,8 \cdot 10^{10}$	0,435
Klebsiella pneumoniae	$7,7 \cdot 10^5 \pm 3,5 \cdot 10^6$	0	0,387
Staphylococcus aureus	$2,7 \cdot 10^3 \pm 1,6 \cdot 10^4$	$6,2 \cdot 10^5 \pm 2,5 \cdot 10^6$	0,155

Enterococcus spp.	$4,5 \cdot 10^6 \pm 1,5 \cdot 10^7$	$3,4 \cdot 10^5 \pm 8,7 \cdot 10^5$	0,278
Bacteroides thetaiotaomicron	$2,2 \cdot 10^8 \pm 4,4 \cdot 10^{10}$	$7,9 \cdot 10^9 \pm 2,5 \cdot 10^{10}$	0,080
Clostridium perfringens	$3,2 \cdot 10^6 \pm 1,7 \cdot 10^7$	$1,9 \cdot 10^6 \pm 7,5 \cdot 10^6$	0,767
Proteus spp.	$6,1 \cdot 10^6 \pm 3,5 \cdot 10^7$	0	0,492
Enterobacter spp. / Citrobacter spp	$2,8 \cdot 10^8 \pm 1,2 \cdot 10^9$	$1,3 \cdot 10^8 \pm 5 \cdot 10^8$	0,641
Parvimonas micra	$2,1 \cdot 10^6 \pm 6,3 \cdot 10^6$	0	0,199
Fusobacterium nucleatum	$6,1 \cdot 10^6 \pm 3,5 \cdot 10^7$	0	0,491

После выполнении логарифмического преобразования значений получили:

**Таблица 5**

	ИБС (n=33)	Без ИБС (n=16)	р-критерий
Bifidobacterium spp.	$20,41 \pm 2,66$	$22,01 \pm 0,91$	0,025

Таким образом, различия достигают уровня статистической значимости по Lactobacillus spp. ( $p=0,023$ ) и Bifidobacterium spp. ( $p=0,025$ ).

В многофакторной модели фактор ИБС сохраняет статистическую значимость для Lactobacillus spp. ( $p=0,0285$ ) и Bifidobacterium spp. ( $p=0,0293$ ).

Для оценки различий в подгруппах использовали многофакторный дисперсионный анализ:

- В многофакторной модели при проведении параметрического анализа на общую бактериальную массу статистически значимо оказывал влияние фактор наличия приема статинов ( $p=0,0123$ ). В многофакторной модели фактор приема статинов при проверке непараметрическими методами дисперсионного анализа выявленные закономерности оказались несостоятельными. ( $p=0,045$ )
- В многофакторной модели при проведении параметрического анализа на *Bacteroides fragilis* group статистически значимо оказывал влияние фактор наличия приема статинов ( $p=0,0476$ ). В многофакторной модели фактор приема статинов при проверке непараметрическими методами дисперсионного анализа выявленные закономерности оказались несостоятельными. ( $p=0,091$ )
- В многофакторной модели при проведении параметрического анализа на *Faecalibacterium prausnitzii* статистически значимо оказывал влияние фактор тип дислипидемии ( $p=0,00204$ ), взаимодействие факторов ИБС-прием статинов ( $p=0,028$ ), взаимодействие факторов ИБС-тип дислипидемии ( $p=0,0411$ ). В многофакторной модели эти факторы при проверке непараметрическими методами дисперсионного анализа выявленные закономерности оказались несостоятельными ( $p=0,179$ ;  $p=0,067$ ;  $p=0,298$  соответственно).
- В многофакторной модели при проведении параметрического анализа на *Enterobacter* spp.\ *Citrobacter* spp. статистически значимых факторов не выявлено. Однако в многофакторной модели при проверке непараметрическими методами дисперсионного анализа выявляется статистически значимое влияние фактора приема статинов. ( $p=0,024$ ).



Таблица 6

## Сравнительная характеристика нарушений микробиоты

	ИБС (n=33)	Без ИБС (n=16)	p-критерий
Общая бактериальная масса $>10^{12}$	5 (15,2%)	1 (6,2%)	0,649
<i>Lactobacillus</i> spp. $<10^7$	24 (72,7%)	8 (50%)	0,200
<i>Bifidobacterium</i> spp. $<10^9$	16 (48,5%)	1 (6,2%)	0,004
<i>Escherichia coli</i> $>10^8$	13 (39,4%)	1 (6,2%)	0,019
<i>Bacteroides</i> <i>fragilis</i> group $>10^{12}$	6 (18,2%)	0	0,159
<i>Faecalibacterium</i> <i>prausnitzii</i> $>10^{11}$	7 (21,22%)	2 (12,5%)	0,698
<i>Klebsiella</i> <i>pneumoniae</i> $>10^4$	4 (12,1%)	0	0,289
<i>Staphylococcus</i> <i>aureus</i> $>10^4$	1 (3,0%)	1 (6,2%)	1,000
<i>Enterococcus</i> spp. $>10^8$	33 (100%)	16 (100%)	1,000
<i>Bacteroides</i> <i>thetaiotaomicron</i>	30 (90,9%)	10 (62,5%)	0,043

<10 <sup>9</sup>			
Clostridium perfringens > 0	4 (12,1%)	1 (6,2%)	1,000
Proteus spp. >10 <sup>4</sup>	32 (97,0%)	16 (100%)	1,000
Enterobacter spp. /Citrobacter spp>10 <sup>4</sup>	6 (18,8%)	7 (43,8%)	0,090
Parvimonas  Micra > 0	9 (27,3%)	0	0,022
Fusobacterium  nucleatum> 0	2 ( 6,1%)	0	0,814

При сравнении группы ИБС с группой контроля обнаружены статистически значимые различия в распределении нарушений микробиоты по Bifidobacterium spp. (p = 0.004), Eshercichia coli (p = 0.019), Bacteroides thetamicon (p = 0.043), Parvimonas micra (p = 0.022)

### 3.2. Оценка нарушений состояния микробиоты у пациентов с ИБС в зависимости от наличия дислипидемии и ее вариантов

**Таблица 7**

	Дислипидемии (n=24)	Без дислипидемии (n=25)	p-критерий
Общая бактериальная	3 (12,5%)	3 (12,0%)	1,000

macca >10 <sup>12</sup>			
Lactobacillus spp. <10 <sup>7</sup>	15 (62,5%)	17 (68,0%)	0,769
Bifidobacterium spp. <10 <sup>9</sup>	10 (41,7%)	7 (28,0%)	0,377
Escherichia coli >10 <sup>8</sup>	6 (25,0%)	8 (32,0%)	0,754
Bacteroides fragilis group >10 <sup>12</sup>	3 (12,5%)	3 (12,0%)	1,000
Faecalibacterium prausnitzii <10 <sup>8</sup>	5 (20,8%)	4 (16,0%)	0,725
Klebsiella pneumoniae >10 <sup>4</sup>	1 (4,2%)	3 (12,0%)	0,609
Staphylococcus aureus >10 <sup>4</sup>	1 (4,2%)	1 (4,0%)	1,000
Enterococcus spp. >10 <sup>8</sup>	25 (100%)	24 (100%)	1,000
Bacteroides thetaiotaomicron <10 <sup>9</sup>	18 (75,0%)	22 (88,0%)	0,289
Clostridium perfringens > 0	0	5 (20,0%)	0,050
Proteus spp.	24 (100,0%)	24 (96,0%)	1,000

>10 <sup>4</sup>			
Enterobacter spp. /Citrobacter spp>10 <sup>4</sup>	8 (34,8%)	5 (20.0%)	0,335
Parvimonas Micra > 0	5 (20,8%)	4 (16,0%)	0,725
Fusobacterium nucleatum> 0	0	2 (8,0%)	0,490

При сравнении пациентов по наличию дислипидемии выявлена тенденция к различию по распределению микробиоты по Clostridium perfringens (p = 0.05)

**Таблица 8**

	Дислипидемия 2А (n=8)	Смешанный тип дислипидемии (n=16)	Без дислипидемии (n=25)	р- критерий
Общая бактериальная масса >10 <sup>12</sup>	2 (25,0%)	1 (6,2%)	3 (12,0%)	0,430
Lactobacillus spp. <10 <sup>7</sup>	4 (50,0%)	11 (68.8%)	17 (68,0%)	0,617
Bifidobacterium spp. <10 <sup>9</sup>	1 (12.5%)	9 (56.2%)	7 (28,0%)	0,088
Escherichia	1 (12.5%)	5 (31,2%)	8 (32,0%)	0,636

coli >10 <sup>8</sup>				
Bacteroides fragilis group >10 <sup>12</sup>	2 (25.0%)	1 (6.2%)	3 (12,0%)	0,430
Faecalibacterium prausnitzii >10 <sup>11</sup>	0	5 (31,2%)	4 (16,0%)	0,164
Klebsiella pneumoniae >10 <sup>4</sup>	1 (12.5%)	0	3 (12,0%)	0,362
Staphylococcus aureus >10 <sup>4</sup>	0	1 ( 6,2%)	1 (4,0%)	1,000
Enterococcus spp. >10 <sup>8</sup>	8 (100%)	16 (100,0%)	25 (100%)	1,000
Bacteroides thetaiotaomicron <10 <sup>9</sup>	6 (75,0%)	12 (75,0%)	22 (88,0%)	0,528
Clostridium perfringens >0	0	0	5 (20,8%)	0,095
Proteus spp. >10 <sup>4</sup>	8 (100%)	16 (100,0%)	24 (96,0%)	1,000
Enterobacter spp. /Citrobacter	2 (25,0%)	6 (40,0%)	5 (20,0%)	0,455

spp>10 <sup>4</sup>				
Parvimonas Micra > 0	1 ( 12,5%)	4 (25,0%)	4 (16,0%)	0,788
Fusobacteriu m nucleatum> 0	0	0	2 (8,0%)	0,660

При сравнении пациентов по типу дислипидемии статистически значимых различий по распределению нарушений микробиоты не обнаружено.

### 3.3. Оценка влияния гиполипидемической терапии на состав кишечной микробиоты у пациентов с ИБС

**Таблица 9**

	Не принимают статины (n=21)	Принимают статины (n=28)	р-критерий
Общая бактериальная масса >10 <sup>12</sup>	0	6 (21,4%)	0,031
Lactobacillus spp. <10 <sup>7</sup>	14 (66,7%)	18 ( 64,3%)	1,000
Bifidobacterium spp. <10 <sup>9</sup>	8 ( 38,1%)	9 ( 32,1%)	0,765
Escherichia coli >10 <sup>8</sup>	2 (9,5%)	12 (42,9%)	0,013

Bacteroides fragilis group >10 <sup>12</sup>	0	6 (21,4%)	0,031
Faecalibacterium prausnitzii >10 <sup>11</sup>	6 (28,6%)	3 (10,7%)	0,146
Klebsiella pneumoniae >10 <sup>4</sup>	0	4 (14,3%)	0,125
Staphylococcus aureus >10 <sup>4</sup>	1 (4,8%)	1 (3,6%)	1,000
Enterococcus spp. >10 <sup>8</sup>	21 (100%)	28 (100%)	1,000
Bacteroides thetaiotaomicron <10 <sup>9</sup>	18 (85,7%)	22 (78,6%)	0,714
Clostridium perfringens > 0	2 (9,5%)	3 (10,7%)	1,000
Proteus spp. >10 <sup>4</sup>	21 (100%)	27 (96,4%)	1,000
Enterobacter spp. /Citrobacter spp>10 <sup>4</sup>	10 (47,6%)	3 (10,7%)	0,004
Parvimonas Micra > 0	1 (4,8%)	8 (28,6%)	0,059
Fusobacterium	0	2 (7,1%)	0,500

nucleatum> 0			
--------------	--	--	--

При сравнении пациентов по наличию факта приема статинов обнаружены статистически значимые различия распределения нарушений микробиоты по общей бактериальной массе ( $p = 0.031$ ), *Escherichia coli* ( $p = 0.013$ ), *Bacteroides* spp. ( $p = 0.031$ ), *Enterobacter/Citrobacter* ( $p = 0.004$ ).

### 3.4. Связь нарушений липидного обмена с изменением состава кишечной микробиоты

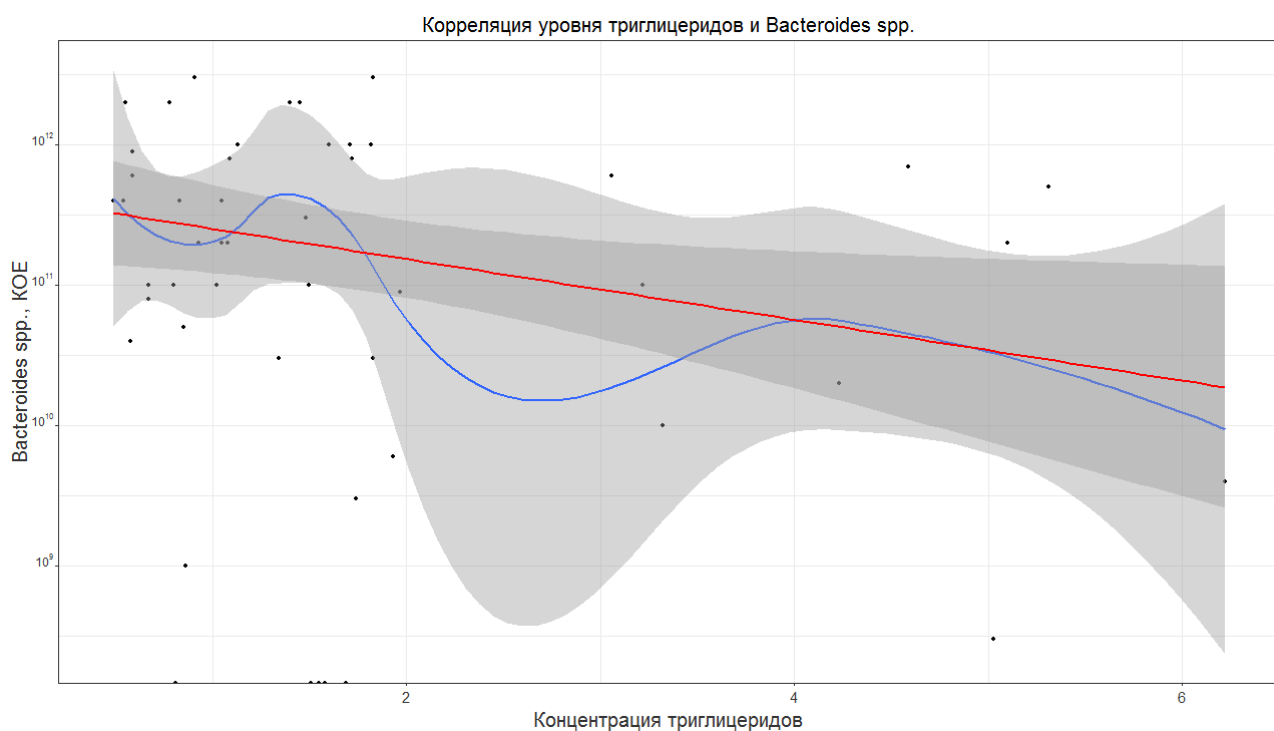
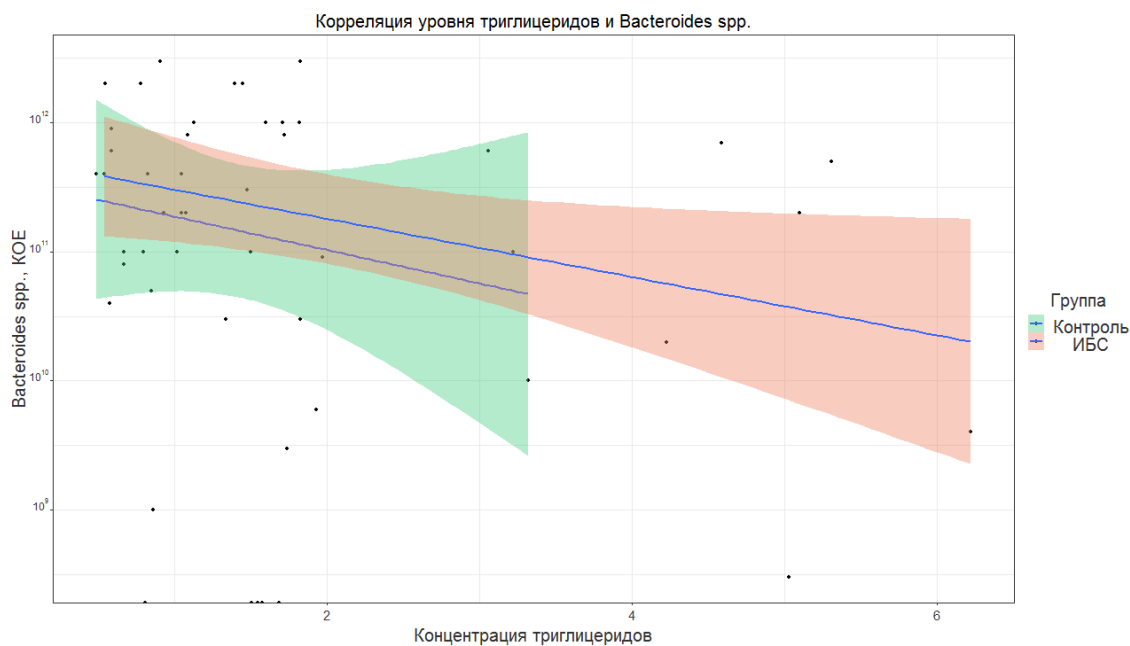


Рис.1. Корреляции между уровнем ТГ и *Bacteroides* spp.

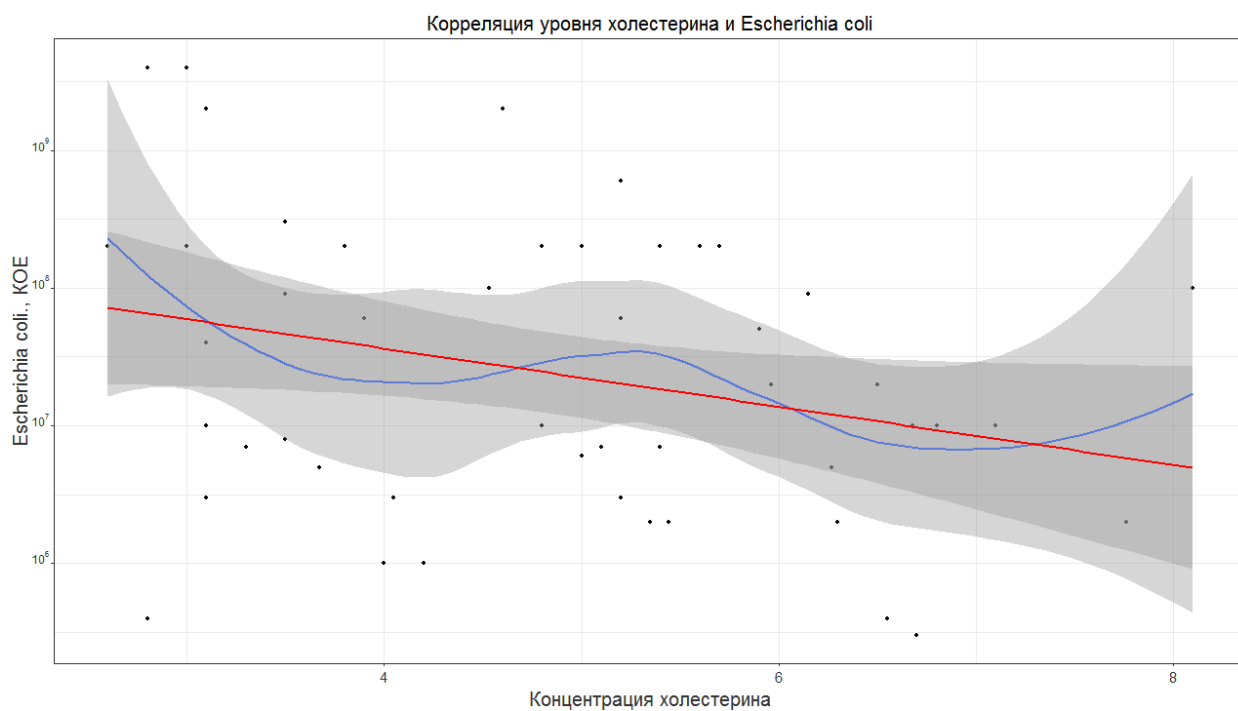
При определении силы взаимосвязи с помощью коэффициента корреляции Пирсона (r-Пирсона) выявляется статистически значимая слабая отрицательная корреляция между уровнем триглицеридов и *Bacteroides* spp. ( $r = -0.34$ ,  $p = 0.024$ )





*Рис.2. Корреляции между уровнем ТГ и Bacteroides spp. У пациентов основной и контрольной группы*

Таким образом, изменение было однонаправленно в обеих группах.



*Рис.3. Корреляции между уровнем ОХ и Escherichia coli.*

При определении силы взаимосвязи с помощью коэффициента корреляции Пирсона (r-Пирсона) выявляется статистически значимая слабая

отрицательная корреляция между уровнем общего холестерина и *Escherichia coli* ( $r = -0.28$ ,  $p = 0.047$ )

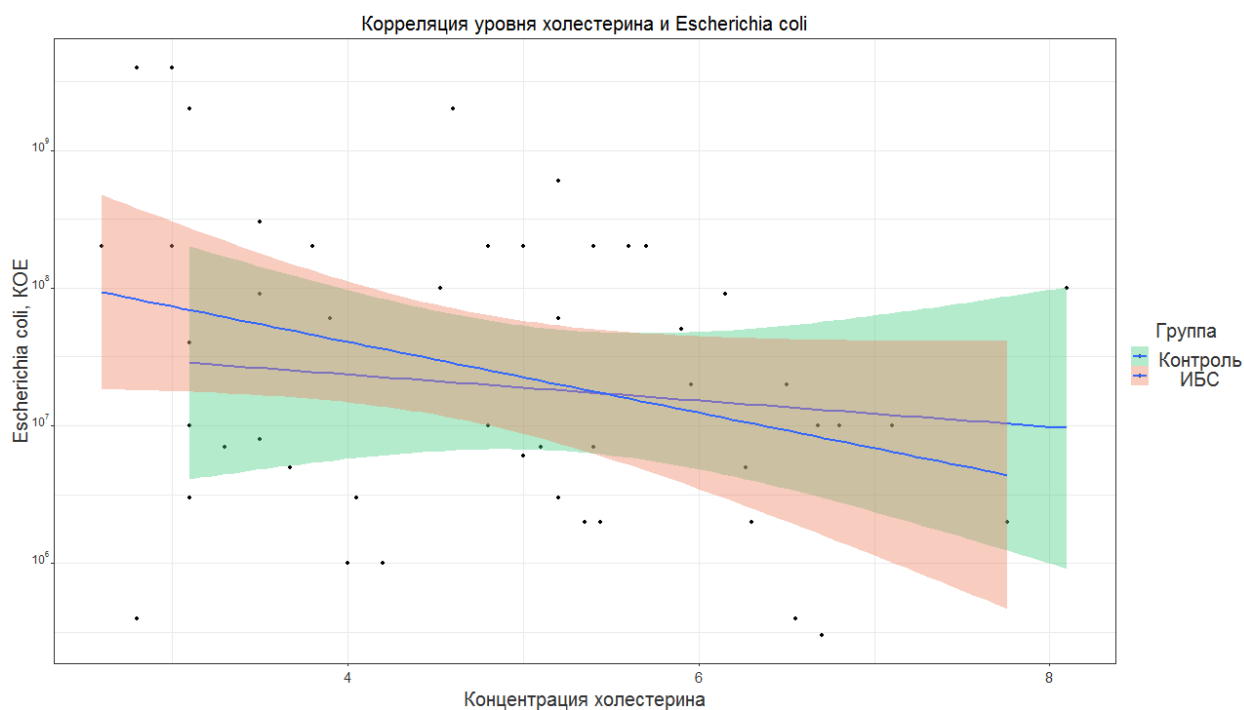


Рис.4. Корреляции между уровнем ОХ и *Escherichia coli*. у пациентов основной и контрольной группы

Таким образом, изменение было однонаправленно в обеих группах.

При проверке статистической значимости потенциальных корреляций между другими показателями липидограммы и нарушениями микробиоты статистически значимых корреляций не обнаружено, поэтому проведение дальнейшего анализа нецелесообразно.

### 3.5. Оценка эффективности пробиотической и аутопробиотической терапии для коррекции дислипидемии у пациентов с ИБС

Изменения в кишечном микробиоценозе после терапии промышленным пробиотиком и аутопробиотиком:

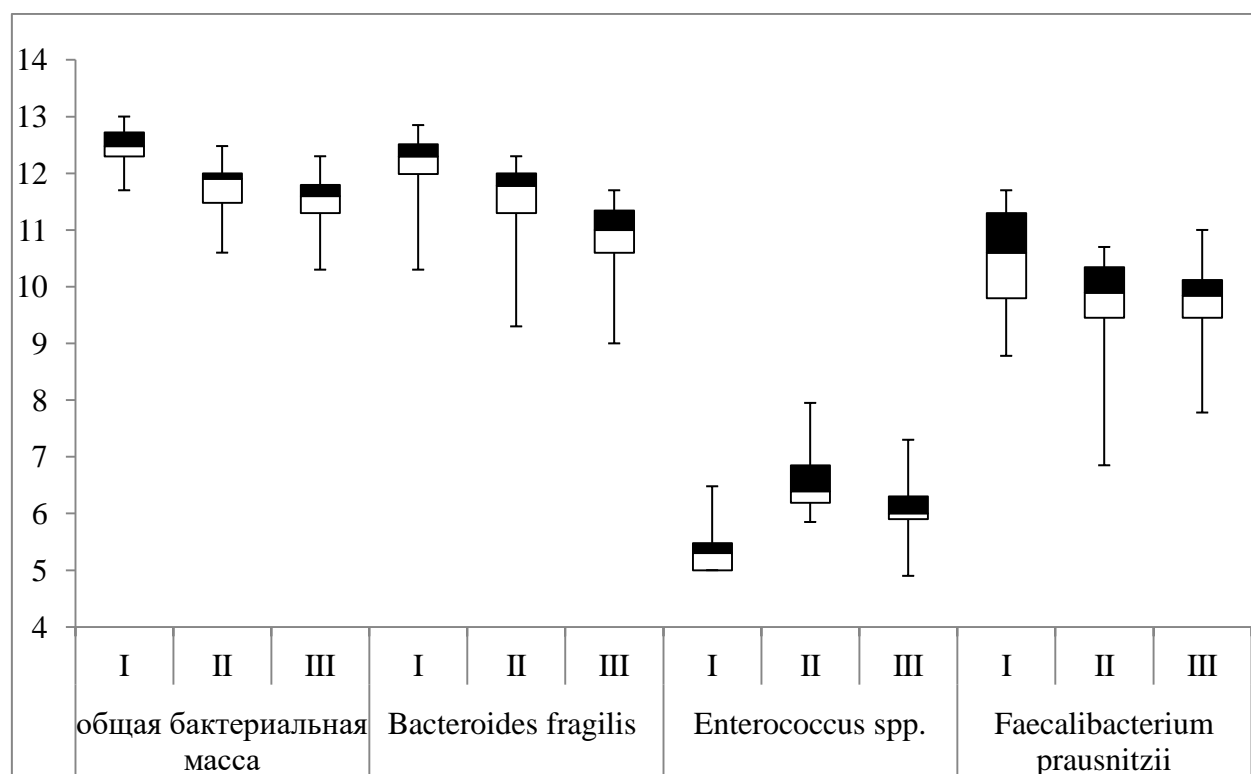


Рис.5 Динамика статистически значимых изменения содержания бактерий в фекалиях больных на фоне введения аутопробиотика

\*Ось ординат lg/KOE на 1 г материала

При сравнении первого и второго периода наблюдений - достоверное снижение общего количества бактерий, *B. fragilis*, *F. prausnitzii*, увеличение количества *Enterococcus spp.*

При сравнении первого и третьего периодов - снижение общего количества бактерий, *B. fragilis*, *F. prausnitzii*.

При сравнении второго и третьего периодов - снижение *B. fragilis*.

Таблица 10

**. Сравнение содержания отдельных бактерий в пробах фекалий  
больных в различные периоды наблюдения на фоне введения  
аутопробиотиков**

	I-II	I-III	II-III
Общая бактериальная масса	0,021	0,020	0,256
Lactobacillus spp.	0,172	0,349	0,752
Bifidobacterium spp.	0,238	0,083	0,793
Escherichia coli	0,141	0,236	0,085
Bacteroides fragilis group	0,006*	1,196	0,014
Bacteroides thetaiotaomicron	0,385	0,292	0,398
Escherichia coli enteropathogenic	0,119	0,497	0,277
Enterococcus spp.	0,025	0,110	0,371
Faecalibacterium prausnitzii	0,014	0,016	0,824
Citrobacter spp.	0,016	0,218	0,012
Enterobacter spp.	0,312	0,015	0,023
Klebsiella spp.	0,429	0,039	0,034

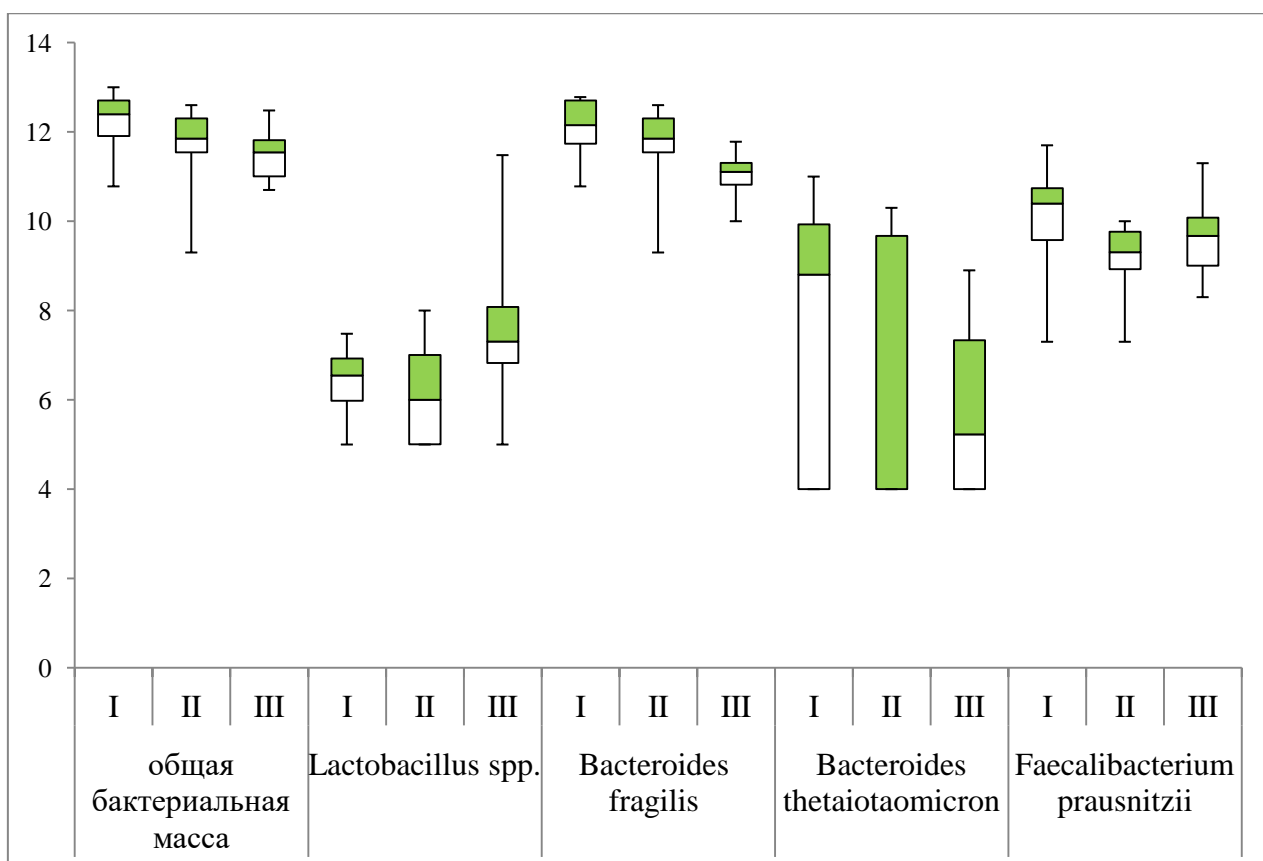


Рис.6 Динамика статистически значимых изменения содержания бактерий в фекалиях больных на фоне введения пробиотика.

\*Ось ординат lg/KOE на 1 г материала

При сравнении первого и второго периода наблюдений - достоверное снижение общего количества бактерий, B.fragilis, F. prausnitzii, увеличение количества Enterococcus spp.

При сравнении первого и третьего периодов - снижение общего количества бактерий, B.fragilis, F. prausnitzii.

При сравнении второго и третьего периодов - снижение количества B. fragilis, увеличение количества лактобацилл, тенденция к увеличению содержания F. Prausnitzii

Таблица 11

**Сравнение содержания отдельных бактерий в пробах фекалий  
больных в различные периоды наблюдения на фоне введения  
пробиотиков**

	I-II	I-III	II-III
Общая бактериальная масса	0,016	0,002	0,636
Lactobacillus spp.	0,160	0,010	0,018
Bifidobacterium spp.	0,145	0,263	0,643
Escherichia coli	0,347	0,331	0,956
Bacteroides fragilis group	0,030	0,032	0,035
Bacteroides thetaiotaomicron	0,149	0,037	0,481
Escherichia coli enteropathogenic	0,233	0,209	0,663
Faecalibacterium prausnitzii	0,0125	0,204	0,122
Citrobacter spp.	0,479	0,027	0,198
Enterobacter spp.	0,635	0,053	0,132
Klebsiella spp.	0,031	0,045	0,617

В таблице 12 приведены данные динамики клинических показателей у пациентов, получавших пробиотическую и аутопробиотическую терапию.

**Таблица 12**

**Динамика клинических показателей у пациентов, получавших ауто- и пробиотическую терапию**

Клинические данные	Пробиотик		Аутопробиотик		Различия между группами после лечения (p)
	до лечения M±m	после лечения M±m	до лечения M±m	после лечения M±m	
Чувство тяжести в эпигастрии	1,29±0,24	0,79±1,17 (p = 0,0166)	1,87±1,13	0,37±1,14 (p = 0,00004)	0,023
Метеоризм	2,33±0,11	1,33±0,17 (p = 0,0002)	2,45±0,12	0,62±0,16 (p = 0,00002)	0,034
Аппетит	1,04±0,04	1,37±0,10 (p=0,0249)	1,00±0,00	1,70±0,09 (p=0,00002)	0,002

Из представленных данных можно сделать заключение, что на фоне терапии аутопробиотиком в сравнении с группой пациентов, получавших промышленный штамм, достоверно уменьшилась выраженность жалоб со стороны ЖКТ.

Динамика основных показателей кишечной микрофлоры у пациентов, принимавших базисную терапию ИБС (данные представлены в виде десятичных log) приведена в таблице 13.

Динамика клинических показателей приведена в таблице 14.

Таблица 13

**Динамика основных показателей кишечной микрофлоры в группе пациентов, принимавших базисную терапию ИБС**

Микроорганизмы	M±m до лечения	M±m после лечения	p
Бифидобактерии	8,30±0,82	8,50±0,04	0,18
Лактобациллы	8,12±0,34	7,91±0,40	0,67
Энтерококки	5,01±0,21	4,92±0,27	0,59
<i>E.coli</i>	7,03±0,21	6,70±0,21	0,11

Таблица 14

**Динамика клинических показателей в группе пациентов, принимавших базисную терапию ИБС**

Клинические показатели	M±m до лечения	M±m после лечения	p
Чувство тяжести в эпигастрии	0,20±1,13	0,21±1,13	1,00
Метеоризм	2,03±0,14	1,91±0,17	0,59
Аппетит	1,32±0,15	1,41±0,16	1,00

Достоверных изменений микробиологических и клинических показателей в контрольной группе пациентов не произошло.

При оценке динамики показателей липидограммы были получены следующие результаты:



**Таблица 15**

**Динамика изменений статистически значимых показателей  
липидограммы на фоне введения пробиотика**

	I	II	III
ХС	6,89±1,04	6,25±1,68	6,31±1,95
ХС ЛПНП	4,14±0,79	4,12±0,96	3,60±0,32

**Таблица 16**

**Динамика изменений статистически значимых показателей  
липидограммы на фоне введения аутопробиотика**

	I	II	III
ХС	6,22±1,22	5,98±0,43	6,05±1,71
ХС ЛПНП	3,95±0,23	3,59±0,16	3,39±0,12

**Таблица 17**

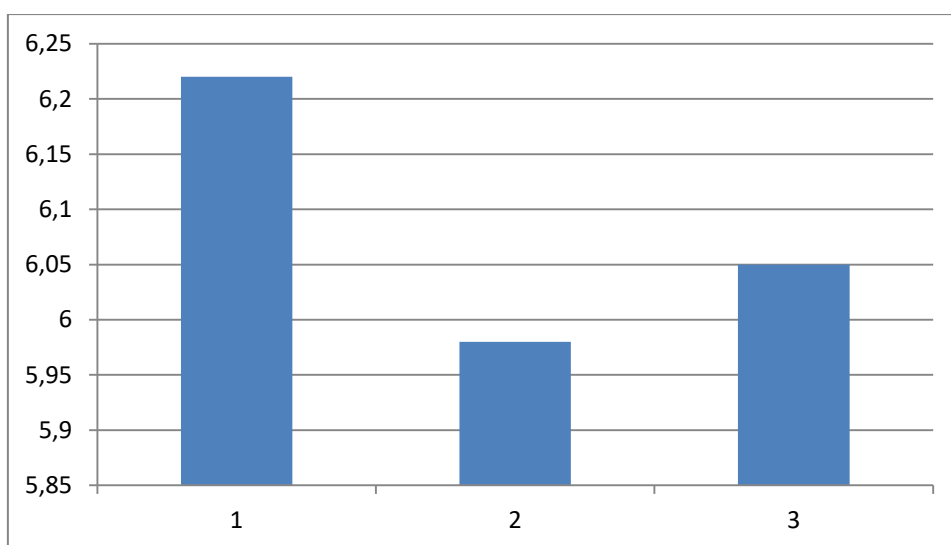
**Сравнение содержания показателей липидограммы в различные  
периоды наблюдения на фоне введения пробиотика**

	I-II	I-III	II-III
ХС	0,018	0,002	0,042
ХС ЛПНП	0,164	0,011	0,019

Таблица 18

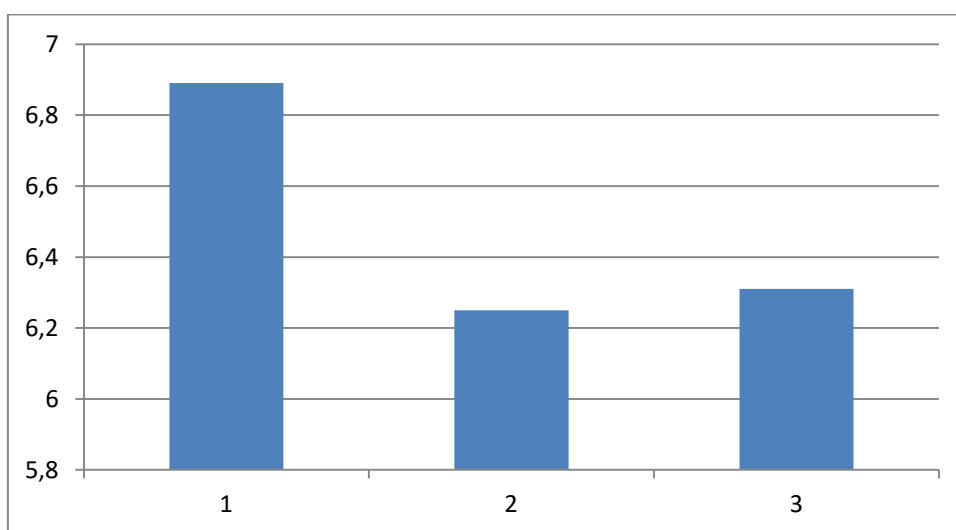
**Сравнение содержания показателей липидограммы в различные периоды наблюдения на фоне введения аутопробиотика**

	I-II	I-III	II-III
ХС	0,023	0,069	0,034
ХС ЛПНП	0,008	0,019	0,219



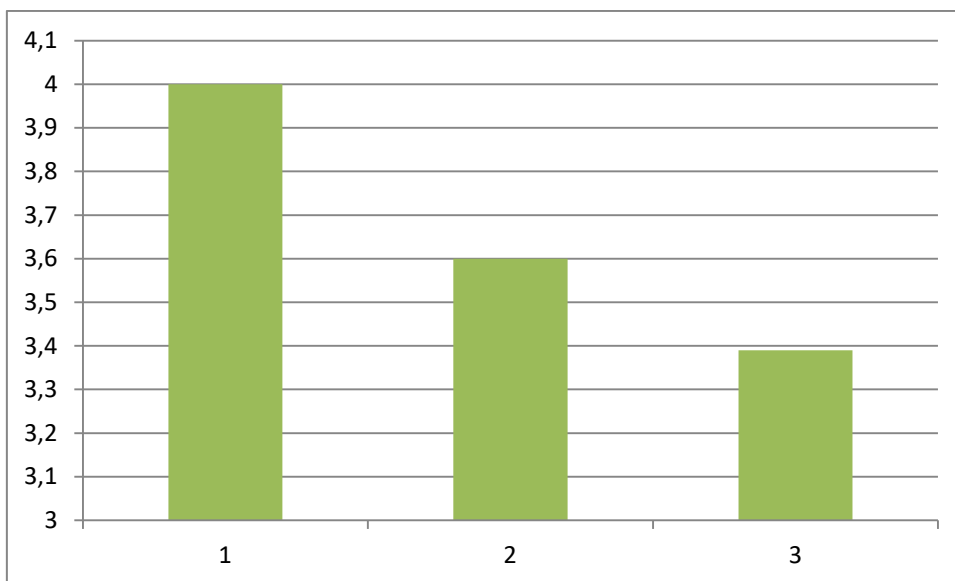
*Рис.7 Динамика уровня ХС у больных группы аутопробиотической терапии*

\*Ось ординат – ммоль/л



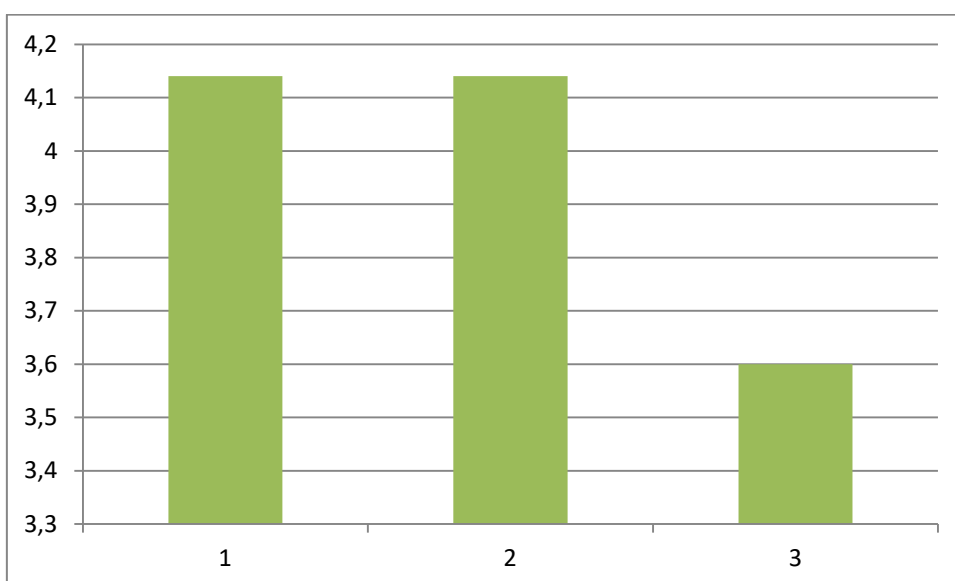
*Рис.8 Динамика уровня ХС у больных группы пробиотической терапии.*

\*Ось ординат – ммоль/л



*Рис.9 Динамика уровня ЛППП у больных группы аутопробиотической терапии*

\*Ось ординат – ммоль/л



*Рис.10 Динамика уровня ЛППП у больных группы пробиотической терапии*

\*Ось ординат – ммоль/л

В отношении других показателей липидограммы статистически значимых результатов получено не было.

Как видно из представленных данных, отчетлива тенденция улучшения биохимических показателей у больных при назначении как аутопробиотиков, так и пробиотиков.

## ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Целью проведенного исследования являлось формирование новых терапевтических подходов с использованием пробиотиков и аутопробиотиков у пациентов с ишемической болезнью сердца, направленных на коррекцию дислипидемии для профилактики дальнейшего развития и более эффективного лечения атеросклероза коронарных артерий.

На первом этапе были обследованы 49 человек. Первую группу составили пациенты с верифицированной ИБС ( $n=33$ ) ( $53,33 \pm 10,75$  лет). Вторую группу ( $n=16$ ) составили пациенты без ИБС ( $42,12 \pm 10,03$  лет).

Параллельно проводили оценку показателей в следующих подгруппах: наличие дислипидемии ( $n=25$ ) ( $49,04 \pm 9,73$  лет), среди которых у пациентов была дислипидемия 2А ( $n=8$ ) ( $49,62 \pm 9,34$  лет) и смешанная дислипидемия ( $n=17$ ) ( $48,37 \pm 10,38$  лет) и дислипидемия отсутствует ( $n=24$ ) ( $55,08 \pm 12,53$  лет). Кроме того сопоставляли пациентов по наличию факта получаемой терапии: принимали статины ( $n=28$ ) ( $57,46 \pm 8,05$  лет) и не принимали статины ( $n=21$ ) ( $44,71 \pm 11,47$ ).

Для изучения эффективности медицинской технологии «Диагностики состояния кишечной микробиоты и лечение ее изменений аутопробиотиками и пробиотиками у пациентов с атеросклерозом» было проведено клиническое исследование, в котором пациенты с атеросклерозом и дислипидемией, ( $n=50$ ) методом случайной выборки были поделены на 3 группы. Группы были сравнимы по полу, возрасту, длительности основного заболевания.

Первая группа пациентов (20 человек) получала персонифицированную терапию аутопробиотиком на фоне базовой терапии, включавшей статины, нитраты, ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента, бета-адреноблокаторы или блокаторы кальциевых каналов, антиагреганты. Пациенты принимали аутопробиотик в виде жидкой безмолочной закваски,

содержащий 108 КОЕ/мл аутоэнтерококков, в дозе 100 мл/сутки - по 50 мл 2 раза в день в течение 20 дней.

Вторая группа пациентов (20 человек) на фоне базовой терапии получала терапию пробиотиком «Авена-Био» в виде безмолочной закваски, содержащей *Enterococcus faecium* L-3, в титре 108 КОЕ/мл в дозе 100 мл/сутки - по 50 мл 2 раза в день в течение 20 дней.

Третья группа пациентов (10 человек) – контрольная – получала только базовую терапию.

Проводили сравнительные клиническую и микробиологическую оценки влияния терапии.

Всем пациентам было проведено клинико-лабораторное обследование, включавшее скрининговые лабораторные тесты (клинический анализ крови, общий анализ мочи, липидограмма, уровень глюкозы плазмы), электрокардиограмму в 12 отведениях, измерялось АД, Определялся индекс массы тела, выполнялись исследование микробиоценоза кишечника бактериологическим методом и ПЦР-РВ кала. Масса тела была оценена по индексу Кетле ( $\text{кг}/\text{м}^2$ ), который рассчитывался как отношение массы ( $\text{кг}$ ) к квадрату роста ( $\text{м}$ )<sup>2</sup>.

Исследование крови на липидный спектр (ОХ, ТГ, ЛПВП, ЛПНП) проводилось ферментативным методом с использованием диалектинов для определения липопротеинов сыворотки крови человека.

Клиническая оценка проводилась на основании динамики выраженности таких жалоб, как дискомфорт в эпигастральной области, метеоризм.

При оценке количественных данных по результатам ПЦР-РВ различия достигают уровня статистической значимости по *Lactobacillus* spp. ( $2,3 \cdot 10^7 \pm 3,3 \cdot 10^7$  vs  $7,1 \cdot 10^6 \pm 1,4 \cdot 10^7$ ) ( $p=0,023$ ), *Bifidobacterium*

spp.( $3,9 \cdot 10^9 \pm 8 \cdot 10^9$  vs  $4,9 \cdot 10^9 \pm 3,3 \cdot 10^9$ ) ( $p=0,025$ ); у пациентов с верифицированной ИБС наблюдалось сниженное количество представленных видов.

В ходе изучения распределения нарушений микробиоты у пациентов основной и контрольной группы статистически значимые различия между группой пациентов с ИБС и группой контроля выявлены по *Bifidobacterium* spp.(48,5% vs 6,2%) ( $p = 0,010$ ), *Escherichia coli* (39.4% vs 6,2%) ( $p = 0,038$ ), *Bacteroides thetaiotaomicron* (90,9% vs 62,5%) ( $p = 0,044$ ), *Parvimonas micra* (27,3 % vs 0%) ( $p=0,022$ ).

Данные, полученные в ходе исследования, находят подтверждения в литературе. Отдельные исследования показали, что отмечается более высокая численность рода *Enterobacteriaceae*. и более низкая численность бактерий, продуцирующих КЦЖК, в том числе *Bifidobacterium* spp, которые производят ацетат и пропионат, в микробиоте кишечника пациентов с симптоматическим атеросклерозом по сравнению со здоровым контролем [27]. Исследование ассоциации в масштабе всего метагенома показало, что численность *Enterobacteriaceae*. была выше у пациентов с атеросклеротическим сердечно-сосудистым заболеванием, чем у здоровых людей. [29,30]

В обзорной статье О.Ш. Ойноткинова и соавт. обозначены исследования Mafune A, Iwamoto T, Tsutsumi Y, et al., в которых было показано, что в ходе анализа фекальной микробиоты у пациентов с коронарным атеросклерозом наблюдался дефицит *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, увеличение численности *Firmicutes*, *Proteobacteria*, *Collinsella*, *Bacteroides*, *Eubacterium* и *Roseburia*, продуцирующих ТМА и участвующих в противовоспалительных и антиоксидантных процессах у пациентов с атеросклерозом. [68].

В обзорной статье Бондаренко В. М., Рыбальченко О. В. и Ерофеева Н. П. [69] обозначены исследования Pereira D.I., Gibson G. R. и Klaver F.A., van der Meer K., в ходе которых было продемонстрировано участие КМ в метаболизме холестерина. Было установлено, что *Bifidobacterium breve* и *Lactobacillus amilovorus* используют и удаляют холестерин из среды культивирования за счёт деконъюгации желчных кислот и их солей.

При проведении корреляционного анализа была выявлена статистически значимая слабая отрицательная корреляция между уровнем триглицеридов и *Bacteroides* spp. ( $r = -0.34$ ,  $p = 0.024$ ), слабая отрицательная связь между уровнем холестерина и *Escherichia coli* ( $r = -0.28$ ,  $p = 0.047$ ).

При сравнении пациентов по факту наличия дислипидемии выявлена тенденция к различию по распределению микробиоты по *Clostridium perfringens* (0% vs 20%) ( $p = 0.05$ ).

При сравнении пациентов в зависимости от приема статинов доля пациентов с увеличенным количеством *Bacteroides fragilis* group ( $7,6 \cdot 10^{11} \pm 9,3 \cdot 10^{11}$  vs  $2,4 \cdot 10^{11} \pm 3 \cdot 10^{11}$ ) ( $p = 0,0476$ ), *Enterobacter* spp./*Citobacter* spp ( $3,2 \cdot 10^8 \pm 1,3 \cdot 10^9$  vs  $1,0 \cdot 10^8 \pm 4,5 \cdot 10^8$ ) ( $p = 0,024$ ) и общей бактериальной массой ( $8,8 \cdot 10^{11} \pm 8,7 \cdot 10^{11}$  vs  $3,3 \cdot 10^{11} \pm 3,3 \cdot 10^{11}$ ) ( $p = 0,0123$ ), была достоверно выше в группе пациентов, принимающих статины. При определении нарушений микробиоты статистически значимые различия между группой пациентов, принимающих и не принимающих статины, были получены по *Escherichia coli* (42,9% vs 9,5%) ( $p = 0,025$ ) и *Enterobacter* spp./*Citrobacter* spp (10,7% vs 47,6%) ( $p = 0,007$ ), общая бактериальная масса (21,4% vs 0%) ( $p = 0,031$ ), *Bacteroides fragilis* group (21,4% vs 0%) ( $p = 0,031$ ).

Полученные данные также находят подтверждение среди последних исследований. В работе Zhao С. и соавт. результаты показали, что терапия аторвастатином и флувастатином значительно изменила структуру бактериальной микробиоты кишечника: присутствие флувастатина (FLU2)

специфически способствовало росту *Escherichia / Shigella*, *Ruminococcaceae* UCG 014 и *Sutterella*. [66].

В исследовании Caparrós-Martín J.A. и соавт., было продемонстрировано, что терапия статинами вызывает глубокое ремоделирование микробиоты кишечника, нарушение регуляции генов печени и метаболические изменения у мышей посредством PXR-зависимого пути. Кроме того, терапия статинами сделала кишечное сообщество менее равномерным, и, в соответствии с этим, группа *Bacteroidales* доминировала в кишечнике мышей, получавших статины. [67].

Таким образом, было установлено, что терапия статинами приводит к глубокому ремоделированию кишечной микробиоты что оставляет открытым вопрос о формировании комбинированных терапевтических стратегий для коррекции нарушений липидного обмена.

Необходимость коррекции дисбиоза у этих больных обусловлена пониманием этиологической роли дисбиоза в развитии дислипидемии и атеросклероза. В отличие от применения промышленных штаммов пробиотиков, аутопробиотическая терапия позволяет избежать иммунный конфликт с организмом хозяина.

Аутопробиотическая терапия на основе аутоштамма энтерококка, как и терапия пробиотиком на основе промышленного штамма того же микроорганизма, позволила достоверно улучшить состояние кишечного микробиоценоза. Различия в антагонизме пробиотика и аутопробиотиков в отношении условно-патогенных микроорганизмов, позволяют персонафицировать пробиотическую поддержку для каждого конкретного больного.

Аутопробиотики вызвали полную элиминацию *Citrobacter* spp. ( $p=0,012$ ) и *Klebsiella* spp. ( $p=0,034$ ) в 3 точке наблюдения. Количество



энтеробактера оставалось практически неизменным на фоне пробиотической терапии и снижалось на фоне использования аутопробиотика.

Кроме того, на фоне терапии аутопробиотиком в сравнении с группой пациентов, получавших промышленный штамм, достоверно уменьшилась выраженность жалоб со стороны ЖКТ: чувства тяжести в эпигастрии ( $p=0,023$ ), метеоризм ( $p=0,034$ ), улучшение аппетита ( $p=0,002$ )

Аутопробиотическая терапия на основе аутоштамма энтерококка, как и терапия пробиотиком на основе промышленного штамма того же микроорганизма, позволила улучшить показатели липидного обмена у больных с изначально повышенными показателями уровней общего холестерина и ХС ЛПНП в крови. Более отчетливая тенденция снижения ХС ЛПНП в 2 ( $p=0,008$ ) и 3 ( $p=0,019$ ) периодах наблюдения наблюдалась в отношении терапии аутопробиотиком.

Действительно, многие исследования продемонстрировали способность некоторых бактериальных штаммов к снижению общего холестерина, холестерина ЛПНП, ТГ и повышение уровня холестерина высокой плотности. [40-42] В ряде исследований предполагается, что пробиотики, содержащие микроорганизмы, продуцирующие КЦЖК, включая *Bifidobacterium*, *Enterococcus* и *Lactobacillus*, обладают множеством преимуществ, включая противовоспалительные и благоприятные метаболические эффекты. [45] В исследовании DiRienzo DB., 2017 наблюдалось значительное снижение ЛПНП при применении следующих пробиотических штаммов: *Lactobacillus reuteri* NCIMB 30242, *Enterococcus faecium* и комбинации *Lactobacillus acidophilus* и *Bifidobacterium lactis*. [49]

Таким образом, полученные в работе данные об эффективности аутопробиотической поддержке больных могут стать основой для дальнейших инновационных разработок, открывающих новые области применения аутопробиотиков в комплексной терапии дислипидемии.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, у пациентов с верифицированной ИБС по сравнению с пациентами из контрольной группы выявлено достоверное снижение количества *Bifidobacterium* spp., *Lactobacillus* spp., а также различия по распределению нарушений в отношении *Bifidobacterium* spp., *Escherichia coli*, *Bacteroides thetaiotaomicron*, *Parvimonas micra* что даёт основание считать, что наличие кишечного дисбиоза негативно влияет на распространение и развитие коронарного атеросклероза.

При проведении корреляционного анализа между результатами исследования микробиоценоза кишечника и показателями липидного профиля была выявлена статистически значимая слабая отрицательная корреляция между уровнем триглицеридов и *Bacteroides* spp., слабая отрицательная связь между уровнем холестерина и *Escherichia coli*.

При сравнении пациентов по факту наличия дислипидемии выявлена тенденция к различию по распределению микробиоты по *Clostridium perfringens*. При сравнении пациентов в зависимости от фенотипа дислипидемии статистически значимых результатов различий кишечной микробиоты получено не было.

При сопоставлении пациентов в зависимости от приема статинов различия кишечной микробиоты были получены в отношении *Bacteroides fragilis* group, *Enterobacter* spp.\ *Citobacter* spp, *Escherichia coli* и общей бактериальной массой; значительная часть нарушений была достоверно выше в группе пациентов, принимающих статины, что подтверждает факт ремоделирования кишечной микробиоты у пациентов с ИБС, получающих гиполипидемическую терапию.

Аутопробиотическая терапия на основе аутоштаммов энтерококков, как и терапия пробиотиком на основе промышленного штамма того же микроорганизма, позволила достоверно улучшить состояние кишечного

микробиоценоза и показателей ОХ И ХС ЛПНП в крови, однако на фоне терапии аутопробиотиком наблюдалось достоверное уменьшение выраженности жалоб со стороны ЖКТ. Более отчетливая тенденция к улучшению показателей липидограммы наблюдалась на фоне терапии аутопробиотиком.

Таким образом, медицинская технология терапии пробиотиком и аутопробиотиком может быть использована для коррекции дисбиотических состояний у больных с дислипидемией для профилактики дальнейшего развития и более эффективного лечения атеросклероза коронарных артерий.

## ВЫВОДЫ

1. У пациентов с ишемической болезнью сердца выявлено достоверное снижение количества *Bifidobacterium* и *Lactobacillus*, что подтверждает наличие нарушений состава микробиоты у пациентов с коронарным атеросклерозом;

2. Подтвержденные отрицательные корреляционные связи между уровнем триглицеридов и *Bacteroides* spp. и между уровнем холестерина и *Escherichia coli* позволяют говорить о влиянии состава кишечной микробиоты на метаболические и воспалительные процессы, принимающие участие в атерогенезе;

3. При сравнении пациентов по факту наличия дислипидемии выявлена тенденция к различию по распределению нарушений микробиоты по *Clostridium perfringens*. Не получены статистически достоверные данные по различию состава кишечной микрофлоры у пациентов в зависимости от фенотипов дислипидемии;

4. Было установлено, что терапия статинами приводит к глубокому ремоделированию кишечной микробиоты, что оставляет открытым вопрос о формировании комбинированных терапевтических стратегий для коррекции нарушений липидного обмена с учетом устранения дисбиоза;

5. Положительное влияние на микробиоценоз и показатели липидного профиля оказывали как аутопробиотики, так и пробиотики. На фоне терапии аутопробиотиком в сравнении с группой пациентов, получавших промышленный штамм, наблюдалось достоверное уменьшение выраженности жалоб со стороны ЖКТ. Для более стойкой и эффективной коррекции показателей липидного обмена у больных с дислипидемией следует продолжить исследования, увеличить длительность курса или количество курсов аутопробиотической поддержки.

## **ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ**

Разработанная медицинская технология аутопробиотической поддержки может быть использована в качестве компонента комплексной терапии дислипидемии.

Полученные в работе данные об эффективности аутопробиотической терапии могут стать основой для дальнейших инновационных разработок, открывающих новые области применения аутопробиотиков в комплексной терапии терапевтических больных.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Jones M.L. Cholesterol lowering with bile salt hydrolase-active probiotic bacteria, mechanism of action, clinical evidence, and future direction for heart health applications/ Jones M.L., et al // Expert Opin. Biol. Ther. — 2013. — Vol. 13 № 5. — P. 631–642
2. Rebolledo C. Bacterial community profile of the gut microbiota differs between hypercholesterolemic subjects and controls/ Rebolledo C., Cuevas A., Zambrano T.// BioMed Res Int. - 2017; doi: 10.1155/2017/8127814.
3. Shinji F. Gut microbiome and metabolic diseases/ Shinji F., Hiroshi O.// Seminars in Immunopathology. — 2014. — Vol. 36. — p. 103–114.
4. Ойноткинова О. Ш. Роль микробиоты кишечника в патогенезе дислипидемии и ассоциированных метаболических нарушений/ О. Ш. Ойноткинова, Е. Л. Никонов, И. З. Гюева// Доказательная гастроэнтерология. — 2017 - 6(2) — с. 29-34 DOI:10.17116/dokgastro20176229-34
5. Koeth R.A. Intestinal microbiota metabolism of L-carnitine, a nutrient in red meat, promotes atherosclerosis/ Koeth R.A., Wang Z., Levison B.S., Buffa J.A., Org E., Sheehy B.T.// Nat Med. — 2013 - 19(5) — p. 576–585. doi: 10.1038/nm.3145.
6. Wang Z. Prognostic value of choline and betaine depends on intestinal microbiota-generated metabolite trimethylamine-N-oxide/ Wang Z., Tang W.H., Buffa J.A., Fu X., Britt E.B., Koeth R.A.// Eur Heart J. - 2014 - 35(14) — p. 904–910. doi: 10.1093/eurheartj/ehu002.
7. Wahlstrom A. Intestinal Crosstalk between Bile Acids and Microbiota and Its Impact on Host Metabolism/ Wahlstrom A., Sayin S.I., Marschall H.U., Backhed F.// Cell Metab. — 2016 - 24(1) — p. 41–50. doi: 10.1016/j.cmet.2016.05.005.

8. Lau K. Bridging the Gap between Gut Microbial Dysbiosis and Cardiovascular Diseases/ Lau K., Srivatsav V., Rizwan A.// *Nutrients* - 2017 - 9 – p. 859; doi:10.3390/nu908085
9. Gadelha C. Effects of probiotics on the lipid profile: systematic review/ Gadelha C., Bezerra A.N.// *J Vasc Bras* - 2019 - 18. doi:10.1590/1677-5449.180124
10. Mueller M. Ursodeoxycholic acid exerts farnesoid X receptor-antagonistic effects on bile acid and lipid metabolism in morbid obesity/ Mueller M., Thorell A., Claudel T., Jha P., Koefeler H., Lackner C. // *J Hepatol.* – 2015 - 62(6) – p.1398–1404. doi: 10.1016/j.jhep.2014.12.034
11. Chávez-Talavera O. Bile Acid Control of Metabolism and Inflammation in Obesity, Type 2 Diabetes, Dyslipidemia, and Nonalcoholic Fatty Liver Disease / Chávez-Talavera O., Tailleux A., Lefebvre P. // *Gastroenterology* - 2017 - 152(7) – p.1679-94. doi: 10.1053/j.gastro.2017.01.055.
12. Broeders E.P., The Bile Acid Chenodeoxycholic Acid Increases Human Brown Adipose Tissue Activity/ Broeders E.P., Nascimento E.B., Havekes B., Brans B., Roumans K.H., Tailleux A.// *Cell Metab.* - 2015 - 22(3) – p.418–426. doi: 10.1016/j.cmet.2015.07.002.
13. Venegas D.P. Short chain fatty acids (SCFAs) mediated gut epithelial and immune regulation and its relevance for inflammatory bowel diseases/ Venegas D.P., De La Fuente M.K., Landskron G., González M.J., Quera R., Dijkstra G., Harmsen H.J.M., Faber K.N., Hermoso M.A.// *Front. Immunol* – 2019 – 10 – p.277. doi: 10.3389/fimmu.2019.00277
14. Schoeler M. Dietary lipids, gut microbiota and lipid metabolism /Schoeler M., Caesar R. // *Rev Endocr Metab Disord* - 2019 - 20(4) – p.461-472. doi:10.1007/s11154-019-09512-0
15. Heianza Y. Gut Microbiota Metabolites and Risk of Major Adverse Cardiovascular Disease Events and Death: A Systematic Review and Meta-Analysis of Prospective Studies/ Heianza Y., Ma W., Manson J.E., Rexrode

- K.M., Qi L.//J. Am. Hear. Assoc. – 2017 - 6:e004947. doi: 10.1161/JAHA.116.004947.
- 16.Qi J. Circulating trimethylamine N-oxide and the risk of cardiovascular diseases: A systematic review and meta-analysis of 11 prospective cohort studies/ Qi J., You T., Li J., Pan T., Xiang L., Han Y., Zhu L. // J. Cell. Mol. Med - 2017 - 22 – p.185–194. doi: 10.1111/jcmm.13307.
  - 17.Seldin M. Trimethylamine N-Oxide Promotes Vascular Inflammation Through Signaling of Mitogen-Activated Protein Kinase and Nuclear Factor-kappaB / Seldin MM, Meng Y, Qi H, Zhu W, Wang Z, Hazen SL, et al. //Journal of the American Heart Association – 2016 - 5(2)
  - 18.Zhu W. Gut Microbial Metabolite TMAO Enhances Platelet Hyperreactivity and Thrombosis Risk / Zhu W., Gregory J.C., Org E., Buffa J.A., Gupta N., Wang Z., et al.// Cell - 2016 - 165(1) – p.111–124. doi: 10.1016/j.cell.2016.02.011
  - 19.Tang W.H.Intestinal microbial metabolism of phosphatidylcholine and cardiovascular risk/ Tang W.H., Wang Z., Levison B.S., Koeth R.A., Britt E.B., Fu X./ N Engl J Med. – 2013 - 368(17) – p.1575–1584. doi: 10.1056/NEJMoa1109400.
  - 20.Suzuki T. Trimethylamine N-oxide and risk stratification after acute myocardial infarction/ Suzuki T., Heaney L.M., Jones D.J., Ng L.L. // Clin Chem – 2017 - 63 – p.420–428
  - 21.Suzuki T. Trimethylamine N-oxide and risk stratification after acute myocardial infarction/ Suzuki T., Heaney L.M., Jones D.J., Ng L.L. // Clin Chem – 2017 - 63 – p.420–428
  - 22.Li X.S. Gut microbiota-dependent trimethylamine N-oxide in acute coronary syndromes: A prognostic marker for incident cardiovascular events beyond traditional risk factors/ Li X.S., Obeid S., Klingenberg R., Gencer B., Mach F., Raber L., Windecker S., Rodondi N., Nanchen D., Muller O., et al. // Eur. Heart J. – 2017 – 38 – p.814–824. doi: 10.1093/eurheartj/ehw582.



23. Tan Y. Plasma Trimethylamine N-oxide as a novel biomarker for plaque rupture in patients with ST-segment-elevation myocardial infarction. / Tan Y., Sheng Z., Zhou P., Liu C., Zhao H., Song L. // *Circ Cardiovasc Interv.* – 2019 - 12:e007281
24. Ridker P.M. CANTOS Trial Group. Antiinflammatory therapy with canakinumab for atherosclerotic disease/ Ridker P.M., Everett B.M., Thuren T.// *N Engl J Med* - 2017 - 377 - p.1119–1131. doi: 10.1056/NEJMoa1707914
25. Jie Z. The gut microbiome in atherosclerotic cardiovascular disease/ Jie Z, Xia H, Zhong SL, et al.// *Nat Commun.* – 2017 - 8 – p. 845. doi: 10.1038/s41467-017-00900-1
26. Nam H.S. Gut Microbiota and Ischemic Stroke: The Role of Trimethylamine N-Oxide. *J Stroke* – 2019 - 21(2) – p. 151-159. doi: 10.5853/jos.2019.00472.
27. Liu H. Alterations in the gut microbiome and metabolism with coronary artery disease severity / Liu H., Chen X., Hu X., Niu H., Tian R., Wang H., Pang H., Jiang L., Qiu B., Chen X., et al. // *Microbiome* – 2019 – 7 – p. 68. doi: 10.1186/s40168-019-0683-9
28. Menni C. Gut microbial diversity is associated with lower arterial stiffness in women/ Menni C., Lin C., Cecelja M., Mangino M., Hernandez M.M., Keehn L., Mohny R.P., Steves C.J., Spector T.D., Kuo C.-F., et al. // *Eur. Hear. J.* – 2018 - 39 – p.2390–2397. doi: 10.1093/eurheartj/ehy226.
29. Jie Z. The gut microbiome in atherosclerotic cardiovascular disease// *Nat Commun.* – 2017 - 8(1) – p.845.
30. Barbara J. Gut Microbiota in Hypertension and Atherosclerosis: A Review/ Barbara J. H. Verhaar, Andrei Prodan, Max Nieuwdorp, Majon Muller// *Nutrients* - 2020 - 12(10) – p. 2982. doi: 10.3390/nu12102982
31. Kashtanova D. A. Gut microbiota and cardiovascular risk factors. Part IV. Arterial hypertension, smoking and the gut microbiota/ Kashtanova D. A., Tkacheva O. N., Bojcov S. A. // *Cardiovascular Therapy and Prevention* – 2016 - vol.15, no. 1 - p. 69–72. doi: 10.15829/1728–8800–2016–1–69–72

32. Kim I.S. Reduced metabolic activity of gut microbiota by antibiotics can potentiate the antithrombotic effect of aspirin/ Kim I.S., Yoo D. H., Jung I. H. // *Biochem Pharmacol* – 2016 - 15(122) – p.72–79
33. Ko H.H.T. Statins: antimicrobial resistance breakers or makers? / Ko H.H.T., Lareu R. R., Dix B. R., Hughes J. D // *Peer J* - 2017 - 24(5): e3952.
34. Caparrós-Martín J.A. Statin therapy causes gut dysbiosis in mice through a PXR-dependent mechanism/ Caparrós-Martín J.A., Lareu R. R., Ramsay J. P., et al. // *Microbiome* - 2017 - 5(1) – p. 95.
35. Nolan J.A. The influence of rosuvastatin on the gastrointestinal microbiota and host gene expression profiles/ Nolan J.A., Skuse P., Govindarajan K., et al. // *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* - 2017 - 312(5) - p.488–497
36. Caparros-Martin J. A. Statin therapy causes gut dysbiosis in mice through a PXR-dependent mechanism/ J. A., Lareu R. R., Ramsay J. P., Peplies J., Reen F. J., Headlam H. A., et al. // *Microbiome* - 5 – p.95.
37. Reis S.A. Mechanisms responsible for the hypocholesterolaemic effect of regular consumption of probiotics/ Reis S.A., Conceição L.L., Rosa D.D., Siqueira N.P., Peluzio M.C.G.// *Nutr Res Rev* - 2017 – p.123
38. Li X.S. Gut microbiota-dependent trimethylamine N-oxide in acute coronary syndromes: A prognostic marker for incident cardiovascular events beyond traditional risk factors/ Li X.S., Obeid S., Klingenberg R., Gencer B., Mach F., Raber L., Windecker S., Rodondi N., Nanchen D., Muller O., et al. // *Eur. Heart J.* - 2017 – 38 – p.814–824. doi: 10.1093/eurheartj/ehw582.
39. Lee Y. Effects of *Bifidobacterium animalis* subsp. *Lactis* BB-12 on the lipid/lipoprotein profile and short chain fatty acids in healthy young adults: a randomized controlled trial/ Lee Y, Ba Z, Roberts RF, Rogers CJ, Fleming JA, Meng H, et al. // *Nutr J.* – 2017 – 21 – p.145-147
40. Bernini L.J. Beneficial effects of *Bifidobacterium lactis* on lipid profile and cytokines in patients with metabolic syndrome: a randomized trial. Effects of probiotics on metabolic syndrome/ Bernini L.J., Simão A.N.C., Alfieri

- D.F. // Nutrition – 2016 – 32(6) – p.716–719. doi: 10.1016/j.nut.2015.11.001.
- 41.Fuentes M.C. Cholesterol-lowering efficacy of *Lactobacillus plantarum* CECT 7527, 7528 and 7529 in hypercholesterolaemic adults/ Fuentes MC, Lajo T, Carrión JM, Cuñé J. // Br J Nutr. – 2013 - 109(10) – p.1866–1872. doi: 10.1017/S000711451200373X.
  - 42.Kullisaar T. The use of probiotic *L. fermentum* ME-3 containing Reg'Activ Cholesterol supplement for 4 weeks has a positive influence on blood lipoprotein profiles and inflammatory cytokines: an open-label preliminary study/ Kullisaar T, Zilmer K, Salum T, Rehema A, Zilmer M. // Nutr J. – 2016 - 15(1) – p. 93. doi: 10.1186/s12937-016-0213-6.
  - 43.Dönmez N. Effects of traditional homemade koumiss on some hematological and biochemical characteristics in sedentary men exposed to exercise/ Dönmez N., Kısadere İ., Balaban C., Kadiralieva N.// Biotech Histochem - 2014
  - 44.Cavallini D.C. Probiotic soy product supplemented with isoflavones improves the lipid profile of moderately hypercholesterolemic Men: a randomized controlled trial/ Cavallini DC, Manzoni MS, Bedani R, et al// Nutrients - 2016 - 8(1) – p. 52. doi: 10.3390/nu8010052.
  - 45.Hiippala K. The Potential of Gut Commensals in Reinforcing Intestinal Barrier Function and Alleviating Inflammation/ Hiippala K., Jouhten H., Ronkainen A., Hartikainen A., Kainulainen V., Jalanka J., Satokari R. // Nutrients - 2018 - 10 – p. 988. doi: 10.3390/nu10080988
  - 46.Wang L. The effects of probiotics on total cholesterol: A meta-analysis of randomized controlled trials/Wang L., Guo M.J., Gao Q., Yang J.F., Yang L., Pang X.L., Jiang X.J.//Medicine (Baltimore) - 2018.
  - 47.Miglioranza Scavuzzi B. The role of probiotics on each component of the metabolic syndrome and other cardiovascular risks/ Miglioranza Scavuzzi B, Miglioranza LH, Henrique FC, Pitelli Paroschi T, Lozovoy MA, Simão AN, // Dichi I Expert Opin Ther Targets - 2015;

48. Rajkumar H. Effect of probiotic (VSL#3) and omega-3 on lipid profile, insulin sensitivity, inflammatory markers, and gut colonization in overweight adults: a randomized, controlled trial. / Mahmood N, Kumar M, Varikuti SR, Challa HR, Myakala SP. // *Mediators Inflamm* - 2014 doi: 10.1155/2014/348959.
49. DiRienzo D.B. Effect of probiotics on biomarkers of cardiovascular disease: implications for heart-healthy diets/ DiRienzo D.B. // *Nutr Rev* - 2017
50. Rerksupphaphol S. A randomized double-blind controlled trial of *Lactobacillus acidophilus* plus *Bifidobacterium bifidum* versus placebo in patients with hypercholesterolemia/ Rerksupphaphol S, Rerksupphaphol L. // *J Clin Diagn Res* - 2015
51. Wu Y. Effect of probiotic *Lactobacillus* on lipid profile: A systematic review and meta-analysis of randomized, controlled trials/ Wu Y, Zhang Q Ren Y, Ruan Z. - 2017
52. Bernini L.J. Beneficial effects of *Bifidobacterium lactis* on lipid profile and cytokines in patients with metabolic syndrome: a randomized trial/ Bernini L.J., Simão A.N.C., Alfieri D.F.// *Nutrition* - 2016
53. Shimizu M. Meta-Analysis: Effects of Probiotic Supplementation on Lipid Profiles in Normal to Mildly Hypercholesterolemic Individuals./ Shimizu M, Hashiguchi M., Shiga T., Tamura H.O., Mochizuki M. - 2015
54. Mo R. Effect of probiotics on lipid profiles in hypercholesterolaemic adults: A meta-analysis of randomized controlled trials/ Mo R, Zhang X, Yang Y.// *Med Clin (Barc)* - 2019
55. Суворов А. Аутопробиотики как подход к восстановлению персонализированной микробиоты/ Суворов А., Карасева А., Котылева М.// *Front Microbiol* – 2018 - 9: 1869. doi: 10.3389 / fmicb.2018.01869
56. Соловьева О.И. Использование пробиотиков и аутопробиотиков при лечении синдрома раздраженного кишечника / Соловьева О.И., Симаненков В.И., Суворов А.Н., Ермоленко Е.И., Шумихина И.А., Свиридов Д.А. // *Exp. Clin. Гастроэнтерол* – 2017 - 7 с.115–120.

57. Zhu Y. Gut microbiota in atherosclerosis: focus on trimethylamine N-oxide/  
Zhu Y, Li Q, Jiang H. // *APMIS* – 2020 - 128(5) – p.353-366.  
doi:10.1111/apm.13038
58. Schiattarella G.G. Gut microbe-generated metabolite trimethylamine-N-oxide as cardiovascular risk biomarker: a systematic review and dose-response meta-analysis/ Schiattarella G.G., Sannino A, Toscano E, Giugliano G, Gargiulo G, Franzone A, et al. // *Eur Heart J* – 2017 - 38 - p.48–56
59. Chistiakov D.A. Mechanisms of foam cell formation in atherosclerosis/  
Chistiakov D.A., Melnichenko A.A., Myasoedova V.A., Grechko A.V., Orekhov A.N. // *J Mol Med* - 2017 – 95 – p.53–65.
60. Chen H. Increased circulating trimethylamine N-oxide plays a contributory role in the development of endothelial dysfunction and hypertension in the RUPP rat model of preeclampsia/ Chen H, Li J, Li N, Liu H, Tang J. // *Hypertens Pregnancy* - 2019 – 38 – p. 96–104
61. Ren D. Hepatotoxicity and endothelial dysfunction induced by high choline diet and the protective effects of phloretin in mice/ Ren D, Liu Y, Zhao Y, Yang X. // *Food Chem Toxicol* - 2016 - 94:203–12.
62. Chou R.H. Trimethylamine N-oxide, circulating endothelial progenitor cells, and endothelial function in patients with stable angina/ Chou R.H., Chen C.Y., Chen I.C., Huang H.L., Lu Y.W., Kuo C.S. // *Sci Rep* - 2019 - 9:4249.
63. Ding L. Trimethylamine-N-oxide (TMAO)-induced atherosclerosis is associated with bile acid metabolism/ Ding L, Chang M, Guo Y, Zhang L, Xue C, Yanagita T, et al. // *Lipids Health Dis* - 2018 – 17 – p.286.
64. Qiu L. *Lactobacillus plantarum* ZDY04 exhibits a strain-specific property of lowering TMAO via the modulation of gut microbiota in mice/ Qiu L, Tao X, Xiong H, Yu J, Wei H.// *Food Funct* - 2018 - 9 : 4299–30
65. Lässiger-Herfurth A. The Gut Microbiota in Cardiovascular Disease and Arterial Thrombosis/ Lässiger-Herfurth A., Pontarollo G., Grill A.,

- Reinhardt C. // *Microorganisms* – 2019 - 7(12) – p.691.  
doi:10.3390/microorganisms7120691
66. Zhao C. An in vitro evaluation of the effects of different statins on the structure and function of human gut bacterial community/ Zhao C, Hu Y, Chen H, et al. // *PLoS One* - 2020 - 15(3):e0230200  
doi:10.1371/journal.pone.0230200
67. Caparrós-Martín J.A. Statin therapy causes gut dysbiosis in mice through a PXR-dependent mechanism/ Caparrós-Martín J.A., Lareu R.R., Ramsay J.P.// *Microbiome* – 2017 - 5(1) – p.95 doi:10.1186/s40168-017-0312-4
68. Oynotkinova O.S. Changes in the intestinal microbiota as a risk factor for dyslipidemia, atherosclerosis and the role of probiotics in their prevention/ Oynotkinova O.S., Nikonov E.L., Demidova T.Y., Baranov A.P., Kryukov E.V., Dedov E.I., Karavashkina E.A. // *Ter Arkh.* 2020 - 92(9) – p. 94-101  
doi: 10.26442/00403660.2020.09.000784. PMID: 33346437.
69. Бондаренко В. М. Роль кишечной микробиоты в обмене холестерина и рециркуляции желчных кислот. // *Лечение и профилактика.* – 2013. - №3(7). – С. 65-73.

### Список печатных работ

1. Арыкина О.Э. Особенности состава кишечной микробиоты у пациентов с коронарным атеросклерозом и нарушениями липидного обмена // XXIV Международная медико-биологическая конференция молодых исследователей «Фундаментальная наука и клиническая медицина – человек и его здоровье»: Материалы научной конференции. — СПб.: Сциентиа, 2021. — с.71-72.